

Untersuchungen
über den Aussagewert der Komponente m_e
(maximale Scherelastizität)
im Thrombelastogramm

Wolfhard Sommer

Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität München
Direktor: Professor Dr. H. Schwiegl

Untersuchungen über den Aussagewert der
Komponente m_e (maximale Scherelastizität)
im Thrombelastogramm

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
in der gesamten Medizin
verfaßt und einer
Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Wolfhard Sommer
aus
Rossbach/Opf.



München 1958

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität München

Referent: Priv. Doz. Dr. R. M a r x
Correferent: Prof. Dr. H. S c h w i e g k
Dekan: Professor Dr. K. B ü n g e l e r

Tag der mündlichen Prüfung: 5. August 1958

Meinen Eltern
in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Einleitung	1
Methodik	2
me-Depressionseffekt von Parameyoloblastenleukämieblut	8
Die Komponente me bei Hämophilie B. (Christmas - disease)	16
Abhängigkeit der Komponente me von der Menge der Thrombo- cyten	22
Beeinflussung der Komponente me durch Thrombocytenhomogeni- sat und -ätherextrakt	25
Beeinflussung der Komponente me durch Schlangengift	28
Beeinflussung der Komponente me durch hochpolymere Sub- stanzen	30
Beeinflussung der Komponente me durch Plasmafaktoren	32
Untersuchungen über eine mögliche Beeinflussung der Kompo- nente me durch Eiweißfraktionen	35
Untersuchungen über die Beeinflussung der Komponente me bei Mischung von gruppengleichem bzw. gruppenverschiedenem Citrat- plasma und -Blut	40
Beeinflussung der Komponente me durch Sera	53
Literaturnachweis	63
Schlußbetrachtung	64
Lebenslauf	65



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555215_0119

Einleitung

Unter den Untersuchungsmethoden zur Beurteilung des Blutgerinnungsvorganges hat sich in den letzten Jahren das Verfahren der Thrombelastographie in besonderem Maße bewährt. In dem Blutband des "Handbuches für Innere Medizin" (Heilmeyer - Bergmann 1951) wird die These aufgestellt, daß ein normales TEG zugleich ein normales Blutgerinnungssystem bedeute, d.h. also, daß bei normalem TEG nur noch eine vasogene hämorrhagische Diathese vorliegen könne. Nun läßt sich offensichtlich die Gerinnungszeit des Nativblutes als solche auch mit älteren Methoden relativ gut feststellen, so daß der besondere Wert des TEG vorwiegend in der Größe me (= der höchsten Scherelastizität nach Hartert) zu suchen wäre. (1)

Die vorliegende Arbeit hatte sich zur Aufgabe gestellt, die Scherelastizität im TEG bzw. me einer näheren Analyse zu unterziehen, um eine klare Vorstellung über ihren Aussagewert und über ihre diagnostischen Möglichkeiten zu gewinnen.

Methodik

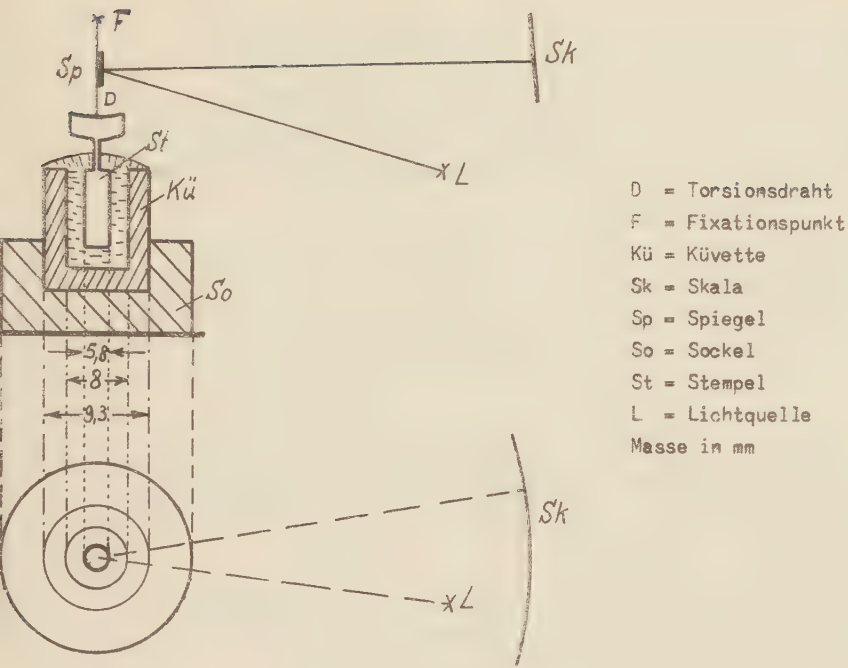
Die Experimente wurden mit dem von Hartert entworfenen Thrombelastographen der Fa. F. Hellige GmbH Freiburg (Fabrik Nr. 1052) durchgeführt. Die Konstruktion und Funktion des Gerätes soll hier im Prinzip erklärt werden.

Zweck des TEG ist es, den Blutgerinnungsablauf optisch und graphisch darzustellen und, wie schon der Name besagt, die elastische Festigkeit des Thrombus zu messen, was mit den bisherigen Methoden nur unvollkommen möglich war.

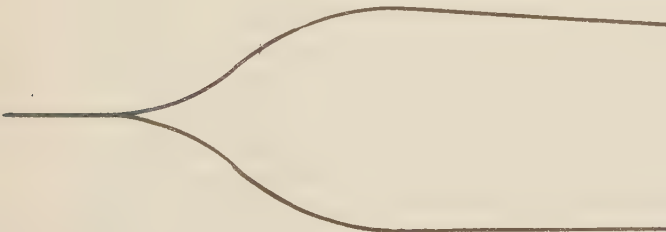
Die Konstruktion fußt vor allem auf der Erkenntnis, daß sich zwischen nicht benetzbaren Oberflächen - ähnlich wie bei einem defekten Blutgefäß - unter bestimmten Bedingungen ein Fibrinnetz ausbilden kann, das eine gewisse elastische Festigkeit besitzt. Es übt darüber hinaus einen gewissen Zug auf die Wand aus, was möglicherweise zur einwandfreien Blutstillung beiträgt.

Im TEG wird V₂-Stahl verwendet, dessen Benetzbarkeit sehr gering ist, der jedoch das Ankleben eines Blutgerinnsels ermöglicht. In eine zylindrische Küvette (Abmessung s. Zeichnung) taucht ein ebenfalls zylindrischer Stempel so ein, daß er vom Boden und von den Seitenwänden gleichmäßig entfernt ist. Der Stempel hängt frei schwebend an einem 2 cm langen Stahldraht von 2 qmm Querschnitt. Der Draht ist oben fixiert, so daß er bei Drehung des Stempels auf seine Torsionselastizität beansprucht wird. An der Unterseite des Drahtes befindet sich eine Kupplungsvorrichtung, so daß der Stempel zu Reinigungszwecken abgenommen werden kann. Oberhalb dieser Vorrichtung ist auf dem Draht ein kleiner Spiegel angebracht, der von einem Lichtstrahl angeleuchtet wird und diesen auf eine Skala reflektiert. Durch eine weitere Spiegelvorrichtung wird der Lichtstrahl auf ein schmales Fenster geworfen, hinter dem sich Photopapier mit einer Geschwindigkeit von 2 mm/Min. vorbei bewegt. (Dieses Papier befindet sich in einer Filmkassette im rückwärtigen Teil des Gerätes).

Zur Anfertigung eines TEG wird die Küvette mit Blut gefüllt und in einen Sockel, der auf 37 Grad C angeheizt ist, eingesetzt. Dieser Sockel ist beweglich und wird über einem Nocken so angetrieben, daß er sich in ca. 9 Sekunden um 4° 45' hin und her dreht. Die Küvette macht diese Bewegung natürlich mit. Nun wird der Stempel in die Küvette gesenkt, das verdrängte und überfließende Blut entfernt und die Küvettenfüllung mit Paraffin überschichtet, um ein Austrocknen zu verhindern. Bilden sich nun zwischen Küvettenwand und Stempel Fibrinfäden aus, dann wird jener allmählich gezwungen, die rotierende Bewe-



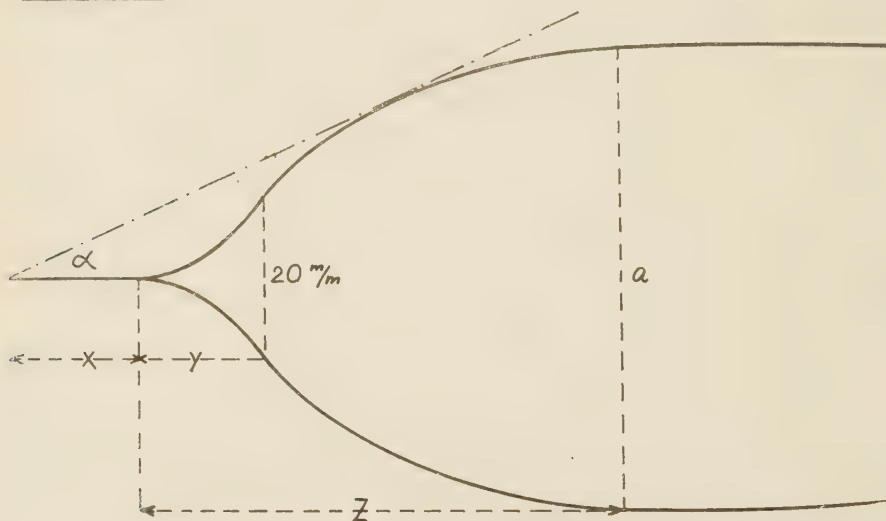
gung mit der Kuvette mitzumachen, und das um so mehr, je fester die Fäden
 sind, welche die rücktreibende Kraft des Torsionsdrantes überwinden müssen.
 Die Bewegungen werden über die Spiegelvorrichtung auf die Skala und auf das
 Papier übertragen und hier registriert. Es resultiert eine Kurve folgender
 Form:



Je mehr der Stempel der Bewegung der Kuvette folgt, desto größer wird die Amplitude der Kurve, desto fester ist naturgemäß das Gerinnsel.

In das zur Verfügung stehende Gerät konnten jeweils 3 Kuvetten eingesetzt werden, so daß es möglich war, drei Versuche gleichzeitig laufen zu lassen. Die Lichtstrahlen wurden dabei so eingestellt, daß sie in einem Abstand von ca. 1 cm registriert wurden.

REG-Meßgrößen



r = Reaktionszeit ist die Zeit, die vergeht, bis das Blut nach der Entnahme aus der Vene (bei Verwendung von Nativblut) oder der Recalcifizierung (bei Citratplasma) anfängt zu gerinnen. Sie setzt sich zusammen aus der Strecke x und der Einfüllzeit (EZ), d.h. der Zeitspanne vom Austritt des ersten Blutstropfens aus der Kanüle bis zum Beginn der Registrierung durch den Thrombelastographen. EZ soll nicht länger sein als maximal 5 Minuten, da sonst Gefahr besteht, daß das Blut vor dem Einsetzen in den Apparat gerinnt. Bei Benützung von ungerinnbar gemachtem Blut (durch Citrat, Oxalat, Sequestren) ist EZ als die Zeit definiert, die von der Recalcifizierung bis zur Registrierung vergeht. EZ wird am besten mit einer Stoppuhr bestimmt. Die Reaktionszeit ist beendet, wenn die Kurve 1 mm breit geworden ist. Die Strecke x wird in mm gemessen; da sich das Papier - wie schon erwähnt - mit einer Geschwindigkeit von 2 mm in der Minute fortbewegt, ist die Hälfte der Strecke x in mm gleich der Zeit in Minuten. Fügt man dazu den Wert für EZ, dann erhält man r = Reak-

tionszeit.

k_1 = Gerinnselbildungszeit ist die Zeitspanne vom Ende der Reaktionszeit bis zu der Stelle, an der die Kurve die Amplitude 20 mm erreicht hat. Die Zeit in Minuten erhält man durch Abmessen der Strecke y und Halbierung des Wertes in mm. k_1 ist proportional der Zeit, die das Gerinnsel zu seiner Ausbildung benötigt.

k_2 = die Zeitspanne vom Ende der Reaktionszeit bis zu dem Punkt, an dem die Kurve die größte Amplitude erreicht. Sie ist ein Näherungswert, da die genaue Bestimmung der Stelle der maximalen Amplitude durch den flachen Verlauf der Kurve unmöglich ist. Sie gibt jedoch für die Praxis hinreichend genauen Aufschluß, ob ein Gerinnsel seine größte Festigkeit schnell oder langsam erreicht.

k_2 ist identisch der Strecke z .

m_e = maximale Elastizität - Sie wird errechnet nach der Formel $m_e = \frac{100 \cdot a}{100 \cdot a}$, wobei a die Stelle in mm ist, an der die Kurve ihre größte Amplitude besitzt. Die eingehende Betrachtung dieser Meßgröße ist das Hauptziel dieser Arbeit.

I = Thrombelastogramminindex ist definiert als $\text{tg } \alpha \cdot 80$. α ist dabei der Winkel zwischen Kurvenachse und einer Tangente, die vom Nullpunkt aus an die Kurve gelegt wird. Diese Größe wurde bei den folgenden Experimenten nicht bestimmt, da sie praktisch nur geringe Bedeutung hat.

Der Thrombelastograph ist ein sehr empfindliches Instrument. Er muß erschütterungsfrei und stets so aufgestellt werden, daß die Stempel genau senkrecht hängen. Die Einstellung erfolgt mittels einer Schraubvorrichtung, wobei eine Wasserwaage als Kontrolle dient. Nach Angaben der Herstellerfirma darf man das Gerät wegen seiner Empfindlichkeit nicht mehr berühren, wenn ein Versuch läuft. Dem gegenüber fanden wir, daß es kaum etwas ausmacht, wenn man eine Küvette aus dem Gerät nimmt oder einsetzt, während ein Parallelversuch läuft; man muß allerdings vorsichtig hantieren. Fehlergebnisse entstehen vor allem, wenn Küvette oder Stempel nur mangelhaft gereinigt sind oder wenn Blut- und Waschmittelreste haften. Ebenso darf der Stempel nach dem Reinigen nicht mehr mit den Fingern berührt werden. Alte Gefäße, die durch die Manipulation beim Reinigen schon stark verkratzt sind (Küvetten- und Stempel sind sehr fein geschliffen und poliert) verfälschen ebenfalls die Ergebnisse. Es erfolgt dann gewöhnlich ein Ablösen des Gerinnsels von der Küvettenwand, wodurch das TEG unbrauchbar wird. Auch muß man beachten, daß die Gefäße stets vollgefüllt sind, wobei eine Überfüllung die Genauigkeit der Ergebnisse viel weniger beeinträchtigt als ein Zuwenig. Selbstverständlich darf das zu untersuchende

Substrat nicht angeronnen sein.

Bei Verwendung von Citratplasma empfiehlt es sich, vor dem Einfüllen des Plasmas die Küvetten im Apparat ca. 5 Minuten anzuwärmen. Anschließend wird das Substrat einpipettiert und zwar jeweils 0,30 ccm. Nachdem die Küvette wieder ins Gerät eingesetzt ist, erfolgt die Recalcifizierung des Plasmas mit 0,06 ccm einer 1,29 %igen Lösung von CaCl_2 . Technisch führt man dies am besten so durch, daß man die angegebene Menge mit einer Tuberkulinspritze, an der eine gebogene Kanüle angebracht ist, aufzieht und durch raschen Druck auf den Kolben in das Plasma spritzt, ohne es zu berühren. Auf diese Weise erfolgt eine hinreichende Durchmischung; es dürfen allerdings keine Blasen entstehen. Es ist überflüssig und schädlich, das recalcifizierte Plasma eigens noch umzurühren - etwa mit einer Kanüle - da diese Manipulation schon zu sehr in den Gerinnungsvorgang eingreift. Im übrigen ist es nicht so wichtig, daß man sich nach einem bestimmten vorgeschriebenen Schema richtet; entscheidend ist, daß man während einer Versuchsreihe immer nur nach einem Schema arbeitet. Nur so bekommt man unter genormten Bedingungen einwandfreie Ergebnisse.

Zu thrombelastographischen Untersuchungen eignet sich am besten natives Venenblut. Kapillarblut ist ungeeignet. Die ideale Punktionskanüle soll konuslos und innen geschliffen sein. In der Praxis hat es sich aber gezeigt, daß die Handhabung dieser Kanüle oft Schwierigkeiten bereitet, besonders wenn noch für andere Zwecke Blut entnommen werden soll. Man begnügt sich deshalb mit einer nicht zu dünnen V_2 -Kanüle, aus der nach einem Vorlauf von 5 ccm das Blut direkt in die Küvette fließt. Die angegebene Menge von 5 ccm Blut ist deshalb wichtig, da die mit den ersten Blutstropfen austretende Gewebsthrombokinase die Ergebnisse verfälschen würde. Das Blut darf nicht mit Glaswänden in Berührung kommen, da hierdurch eine unkontrollierbare Aktivierung von Gerinnungsfaktoren erfolgen würde. Mischungen von Nativblut haben stets in silikonierten oder paraffinierten Gläsern zu erfolgen. Der Kontakt von ungerinnbar gemachtem Blut oder Plasma mit Glas ist unbedenklich, da hierdurch nur die Komponenten r , k_1 , geringfügig verändert werden, während m_e konstant bleibt. (S.). Bei Nativblut dagegen kann nach Kontakt mit Glas außer der Verkürzung von r , k_1 , k_2 eine Vergrößerung von m_e erfolgen.

Neben Nativblut ist auch Citratblut gut für Untersuchungen im TEG geeignet, wobei die Resultate besonders im Hinblick auf m_e ungefähr denen mit Nativblut entsprechen. Citratplasma zeigt durch seinen relativen Reichtum an Thrombocyten eine größere maximale Elastizität, vorausgesetzt, daß der Versuch bald nach der Blutentnahme gemacht wird. Für vergleichende Untersuchungen ist die Verwendung von Citratplasma jedoch sehr vorteilhaft.

Zur Registrierung der Experimente wird 10 cm breites, beiderseits perforiertes lichtempfindliches Papier verwendet. Man muß beachten, daß die Schichtseite innen ist, da ansonsten keine Aufzeichnung erfolgt. Zur Entwicklung wird das Papier 5 Minuten in Entwicklerlösung eingebracht, abgespült, 10 Min. fixiert und anschließend mindestens 15 Min. gewässert. Nach dem Trocknen erfolgt die Auswertung der Kurven nach den angegebenen Richtlinien.

Im TEG interessieren vor allem die Größen r , k_1 , k_2 und me . Wie Versuche gezeigt haben, ist k_2 selten länger als 50 Minuten. Es ist also unnötig, ein TEG über 60 bis 90 Minuten laufen zu lassen, außer man interessiert sich für die Fibrinolyse - hier muß ja der Abfall der Amplitude beobachtet werden - oder für ein TEG bei Hämophilie, wo eine abnorm lange Reaktionszeit und Gerinnselbildung folgt.

Bei Beachtung aller wichtigen Gesichtspunkte ist es durchaus möglich, mit dem TEG einwandfreie Resultate zu erzielen. Anfangs auftretende rein manuelle Schwierigkeiten werden durch einige Übung leicht überwunden.

Anhang:

Normalwerte für TEG.

	Nativblut	Citratblut	Citratplasma
r	bis 13'	bis 12'	bis 9'
k_1	bis 7'	bis 6'	bis 4 1/2'
k_2	30 - 45'	25 - 35'	ca. 30'
me	85 - 150'	85 - 150	90 - 250 u. mehr

me-Depressionseffekt von Paramyeloblasten-
leukämieblut

Fall S. Maria, 41 J.

Der Anamnese nach starben beide Eltern relativ früh an Tbc (Vater mit 36, Mutter mit 23 J.). Ein Bruder ist gesund, Erbkrankheiten sind in der Familie nicht bekannt.

Die Patientin kann sich nicht erinnern, ernstlich krank gewesen zu sein. Seit einigen Jahren leidet sie an rheumatischen Schmerzen, zuerst in der Schulter, später auch im Hüftgelenk. Nach Einnahme von Tabletten entsteht oft heftiger Brechreiz. Gelegentlich einer Nasenspülung tritt profuses Nasenbluten auf, das sich öfters wiederholt. Die Periode ist verstärkt und es treten blaue Flecken an den Beinen auf. Wegen häufiger Lymphdrüenschwellungen sollen die Mandeln entfernt werden, infolge der Blutungsgefahr jedoch wird die Tonsillektomie verschoben.

Das Wesentliche aus dem Aufnahmebefund ist:

Vergrößerung beider Tonsillen (kein Eiter exprimierbar), am Hals rechts Drüsenanschwellung (keine Struma), Lunge o.B. RR 125/85, am Herzen zweiter Pulmanalton etwas klappend, über der Spitze und P₂ systol. Unreinheit. Leber und Milz sind nicht zu tasten, jedoch ist die Splen perkutorisch etwas vergrößert und es besteht Druckschmerz unter dem linken Rippenbogen, desgleichen in der rechten Adnexgegend und in den Iliosakralfugen. Der Appetit ist schlecht infolge andauerndem Brechreiz, Schlaf gut, Stuhl Mictio o.B.

Blutbild (23.3.55).

Hb 60 %

FI 1,05

Ery 2,88

Leuko 19300

Paramyeloblasten	48 %	Lympho	6 %
Promyelocyten	2 %	Monoc.	2 %
Myelocyten	16 %	Normoblasten	2
Paramyelocyten	4 %		
Mikromyeloc.	10 %		
Stabkernige	4 %		
Segmentkernige	6 %		

Thrombocyten 14000

Auf Grund des Blutbefundes und der klinischen Erscheinungen wurde eine Leukämie diagnostiziert.

Verlauf der Krankheit:

28. 3. Interkurrierter Infekt, behandelt mit Hosiarnyzin (bei Injektion großes Hämatom) und Penifen.
1. 4. Starkes Nasenbluten, das durch Gelatineschaumeinlagen gut beherrscht werden kann.
2. 4. Hb auf 40 % abgesunken.
4. 4. Transfusion von 500 ccm Blut
7. 4. " " beide Male gut vertragen.
12. 4. Hb auf 51 % gestiegen.
18. 4. Aßermals Nasenbluten, Periode etwas stark und verlängert.
22. - 26. 4. Täglich Nasenbluten.
24. 4. Hb. 31 %
Leuko 14 750
Thrombo 1 450
26. 4. 250 ccm Blut transfundiert
28. 4. 500 "
30. 4. 500 "
3. 5. 500 "
10. 5. 500 "
17. 5. 500 "
18. 5. Hb 38 %
FI 1,06
Ery 1,84
Thrombo 1 840
23. 5. 500 ccm Blut transfundiert, Nasenbluten bis 25.5.
25. 5. Trotz der vielen Transfusionen und ACTH-Medikation steigt das Hb nicht über 42 %. In letzter Zeit treten Unverträglichkeitserscheinungen bei den Transfusionen auf, ferner Hämatome bei gewöhnlichen Injektionen. Die Gefahr einer Hirnblutung erscheint sehr groß, zumal die erhebliche Thrombopenie von ca. 1 500 unverändert anhält. Eine Splenektomie erschien deshalb wenigstens eine gewisse Chance auf Lebensverlängerung geben zu können.

Kurzer Operationsbericht:

In der Schnittfläche ist das Blut hellrot, wässrig, ohne Gerinnungsneigung. Bei Eröffnung der Bauchhöhle keine Besonderheiten. Etwas helle, kaum vergrößerte Leber, stark ektatischer Magen, kein Erguß. Entfernung der Milz lege artis, Blutung in die Bauchhöhle ist verhältnismäßig gering. Absuchen nach Blutungsquellen, Einlegen eines Gummidrains und Jodoformgazestreifen in den linken subphrenischen Raum und Leitung durch den Hautschnitt nach außen. Beim Schließen des Abdomens besteht überall eine wässrige Sickerblutung. Ebenso läßt sich durch den Schlauch wässriges Blut nach außen befördern. Eine Koagulation erfolgt nicht, Hb zwischen 30 und 35 %. Kompression des Abdomens durch Elastoplastbindenverband. Tachykardie nach Beendigung des Eingriffs, RR normal.

Während der Operation bekommt die Patientin 500 ccm Blut und am selben Tag nochmals 800 ccm transfundiert. Am nächsten Tag ist der Allgemeinzustand ganz gut, die Temperatur jedoch auf 39,5 bis 40 angestiegen. Am 2. Tag entsteht zunehmende Atemnot, und trotz intensiver therapeutischer Maßnahmen erfolgt am 28. 5. gegen 20 Uhr der Tod, als dessen Ursache das Versagen der vegetativen Zentren durch die Hypoxämie angesehen wird.

Bei der Sektion zeigt sich keine Blutung im Bauchraum. Die histolog. Untersuchung der 750 g schweren, 20 x 11 x 7 cm großen Milz ergibt: Fibröse Induration mit älteren Resten peritrabekulärer Blutungen, Atrophie der Follikel und hochgradige zellige Hyperplasie des Reticulums vorwiegend aus Zellen der myeloischen Reihe bestehend, unter denen viele patholog. Myeloblasten oder Reticulumzellen auffallen.

Blutbildkontrollen:

	Hb	Ery	FI	Leuko	Thrombo	Transf.
26. 5.	48 %	1,77	1,37	39 800	21 240	500 ccm
Operation	-					
26. 5.	48 %	2,19	1,09			800 ccm
27. 5.	60 %	3,1	1,0	40 500	74 000	
28. 5.	56 %	1,48	1,12		93 240	

Thrombelastographische Untersuchungen

Das erste TEG, das 8 Tage nach Aufnahme der Patientin mit Nativblut ausgeführt wurde, zeigt normale Reaktionszeit und eine sehr schmale Amplitude, die

zunächst als Ausdruck der hochgradigen Thrombopenie gedeutet wurde (schlafes Gerinnsel). Auch die anderen TEG's ergaben 2 Monate hindurch im wesentlichen dasselbe.

Nativblut - TEG's.

	30.3.55	3.4.55	5.4.55	3.5.55	23.5.55
r	7 1/2'	9'	12'	10'	10 1/2'
k ₁	22'	54'	46'	--	--
k ₂	50'	54'	60'	60'	60'
me	32	25	27	23	16

Um zu erkunden, wie sich das TEG nach einer Bluttransfusion verändert, wurde am 5. 4. folgendes Experiment durchgeführt:

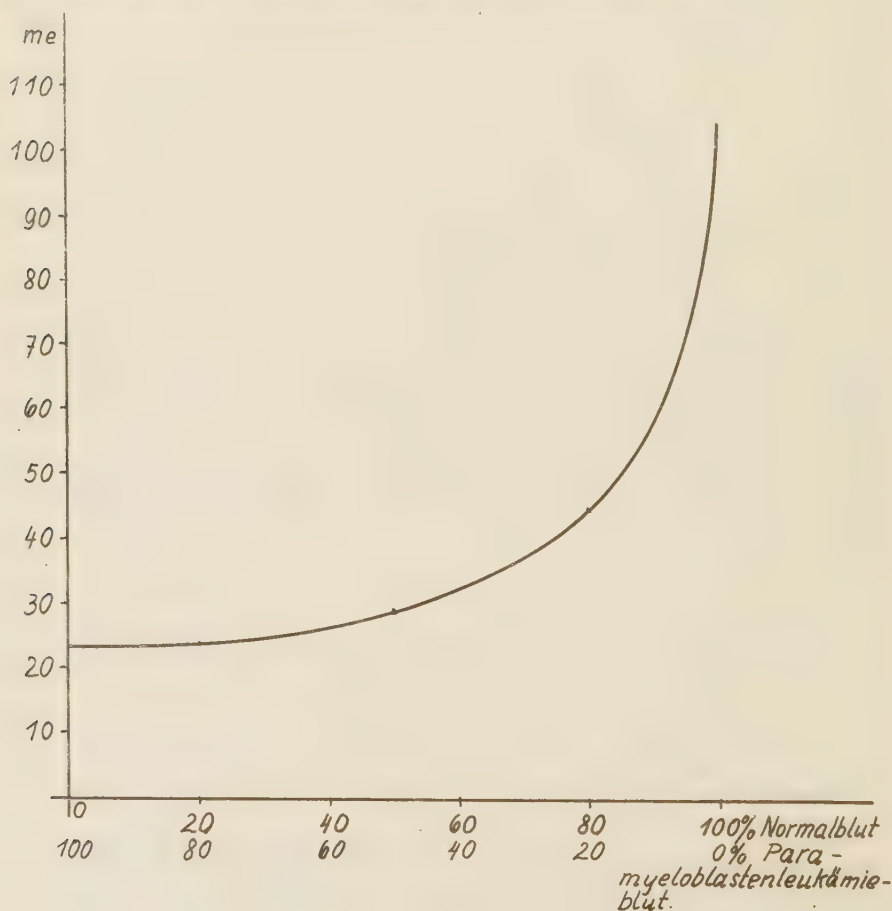
Es wurde ein Nativblut - TEG der Pat. angefertigt. Auf die Blutentnahme folgte die Transfusion von 400 ccm Citratblut (3 Tage alt). Nach deren Beendigung wurde die Cubitalvene des anderen Armes punktiert und das Blut wiederum thrombelastographisch untersucht. Es ergab sich wie erwartet eine Verkürzung von r, k₁ sowie eine geringe Vergrößerung der Amplitude nach der Transfusion. Als am 28. 4. derselbe Versuch wiederholt wurde, konnte, obwohl technisch einwandfrei gearbeitet wurde, dies Ergebnis nicht mehr reproduziert werden. Es zeigte sich sogar eine geringe Verschiebung der TEG-Werte nach der pathologischen Seite hin.

	5. 4.		28. 4.	
	vor	nach	vor	nach
r	11'	4'	9'	9'
k ₁	46'	20'	18 1/2'	26'
k ₂	60'	50'	60'	60'
me	27	33	32	30

Das Experiment wurde nun in vitro nachgeahmt in der Form, daß 90 % natives Patientenblut mit 10 % Blut eines Gesunden (S.) vermischt im TEG untersucht wurde. Die pathologischen Werte, insbesondere die schmale Amplitude änderten sich jedoch nicht. Das Mischungsverhältnis wurde nun auf 80/20, 50/50 verändert, doch selbst die Beimengung von 80 % Normalblut zu 20 % Blut der Patientin konnte das TEG nicht annähernd normalisieren.

Die graphische Darstellung der me- Werte ergibt folgende Kurve:

depressorische Wirkung von Leukämieblut bei Zumischung von gruppengleichem Normalblut ohne Thrombaggutination und Fibrinolyseeffekt.



Wertetabelle

Patientin	90 %	80	50	50	20	0
Normaler	10 %	20	50	50	80	100
r	6'	8'	5 1/2'	5 1/2'	6 1/2'	6'
k ₁	64'	38'	32'	26'	7 1/2'	5'
k ₂	64'	38'	50'	50'	45'	35'
me	25	25	27	28	45	103

normal = S.
normal = K.

Die angegebene Kurve unterscheidet sich bedeutend von den auf S. 41 (Thrombopeniker / Normaler) und S. 23 (thrombocytenfreies / thrombocytenhaltiges Plasma) dargestellt. Es kann also in vorliegendem Fall nicht die hochgradige Thrombopenie allein für das pathologische TEG verantwortlich gemacht werden, denn nach Hinzufügen von Thrombocyten - was durch die Beimengung von Normalblut erreicht wurde - vergrößerte sich die Amplitude kaum. Es muß also ein anderer, "me-depressorischer" Faktor vorhanden sein. In der Folgezeit wurden obige Experimente bei verschiedenen Patienten, die an Leukämie, Thrombopenie und Thrombopathie leiden, wiederholt, jedoch konnte ein gleiches Ergebnis nicht mehr beobachtet werden. Selbst bei me-Werten von 15 - 20 wurde nach Beimengung des Patientenblutes zu Normalblut nie mehr ein derart depressorischer Effekt beobachtet. Um zu erkunden, welcher Art die hypothetischen depressorischen Faktoren sind und wo man sie suchen muß, wurde eine Reihe weiterer Versuche angesetzt.

1.) Mischung von Patientencitratplasma mit normalem. Die langen r-Werte sind auf die Aufbewahrung zurückzuführen. Das Plasma stand 2 1/2 Tage im Eisschrank (Absinken des Prothrombinspiegels).

	normal	Patientin	Mischung $\frac{50}{50}$
r	42'	31'	40'
k ₁	22'	---	---
k ₂	45'	ca. 50'	ca. 50'
me	61	15	18

Auch das Plasma zeigt also die me-hemmende Wirkung.

- 2.) In einem Versuch wurde nun Thrombokinase zugesetzt. Das TEG konnte jedoch nicht wie bei einer Hämophilie B (S. 18) normalisiert werden, sondern blieb im wesentlichen - von einer starken Verkürzung von r abgesehen - unverändert.

Ansatz: 0,29 ccm Plasma

0,07 ccm (80 % CaCl_2 , 20 % Thrombokinase)

Es wurde dasselbe Normalplasma wie oben verwendet.

	normal	Patientin	Mischg. $\frac{50}{50}$
r	4'	1 1/2'	1 1/2'
k ₁	10 1/2'	---	48'
k ₂	50'	50'	48'
me	61	20	25

- 3.) Nun wurde Serum der Patientin, das nach Defibrinieren des Nativblutes durch einen Holzstab und Abzentrifugieren gewonnen wurde, einem normalen Nativblut zugesetzt und zwar im Verhältnis 0,1 ccm Serum zu 2,6 ccm Blut.

	leer	mit Serum	leer	mit Serum
r	12'	4'	12'	6'
k ₁	6'	14'	6'	---
k ₂	45'	35'	45'	60'
me	104	35	104	12

17. 5. 55
26. 5. 55

Aus den Versuchen ergab sich, daß besonders das Serum hemmend auf me wirkt. Der depressorische Faktor müßte also hier gesucht werden. Es gelang jedoch nicht, ihn näher zu bestimmen, da weitere Experimente durch den Tod der Patientin unmöglich gemacht wurden. Vermutlich handelt es sich um ein Pathoprotein. Thrombocytenagglutinine konnten bei phasenkontrastmikroskopischer Betrachtung nicht nachgewiesen werden. In den Mischungen waren nach 24 Stunden die Plättchen nahezu unversehrt. Eine Fibrinolyse war nach 24 Stunden kaum erkennbar, und erst nach 3 Tagen der Norm entsprechend vollständig. Serum der Patientin, das von den Behringwerken getrocknet wurde, konnte zu Versuchen nicht mehr herangezogen werden, da es in den üblichen Lösungsmitteln (Aqua dest. und physiolog. Kochsalzlösung) keine Lösungstendenz mehr zeigt. Vielleicht ist auch hierfür die Anwesenheit von pathologischen Eiweißkörpern, die eine Denaturierung veranlassen, verantwortlich.

Zusammenfassung:

Es wurde eine Patientin mit Paramyeloblastenleukämie beschrieben, die in ihrem Serum me-hemmende Stoffe aufweist. Die nähere Analyse der wahrscheinlich zu den Pathoproteinen zu zählenden Substanzen war leider nicht möglich.

Die Komponente me bei Hämophilie B.

(Christmas - disease)

Fall D.

Im Vordergrund der Anamnese stehen Blutungen, die besonders nach Zahnextraktionen gefährlichen Charakter annehmen. Injektion von Clauden vermag die Blutungen nicht zu stillen. Die Drucktamponade der Extraktionswunde mit Gelatine-thrombinwürfeln und lokale Anwendung von Thrombinpuder sind dagegen erfolgreich. Daneben leider der Patient unter einem Hypertonus mit Leberstauung (RR 230 / 160), wobei besonders der hohe diastolische Druck die Nachblutungen begünstigt.

Die Blutuntersuchung führte zur Diagnose einer Christmas-Krankheit, deren Charakteristikum ein Mangel an Faktor IX ist. Daraus resultiert ein verminderter Thrombokinaspiegel. Die Prothrombinzeit ist verlängert auf 18,5 Sekunden (normal 13 - 14 Sek.) - als Folge der Leberstauung bei Hochdruck oder Verminderung von Faktor VII im Zusammenhang mit dem Faktor IX - Mangel - kann aber durch Gaben von Vitamin K (Synkavit) normalisiert werden.

Das TEG zeigt unter anderem eine verminderte Thrombuselastizität, die bisher nicht als zur Christmas-disease obligat beobachtet wurde.

Thrombelastographische Untersuchungen

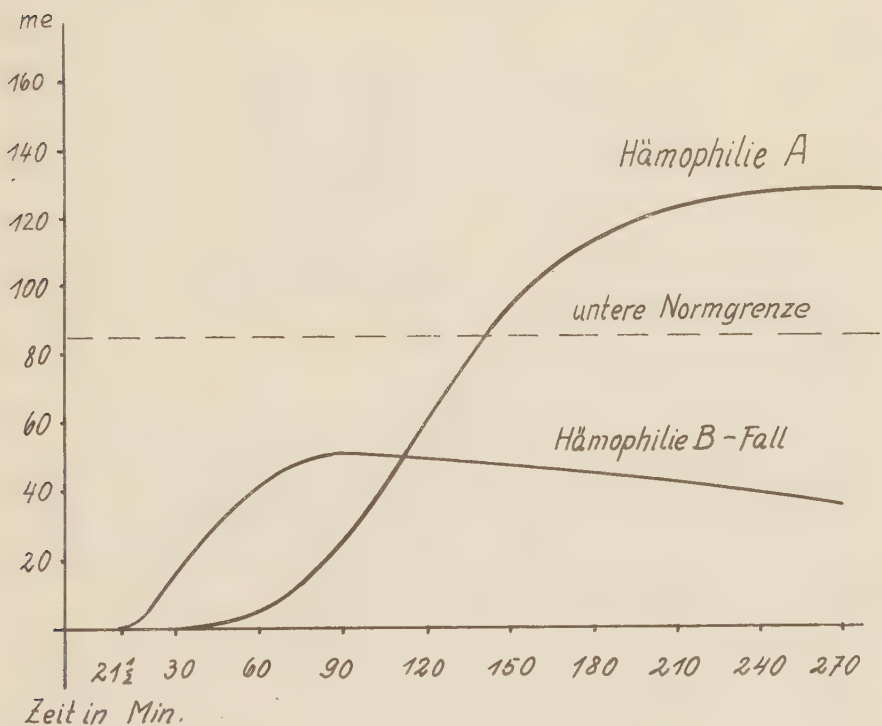
1.) Nativblutwerte:

	17. 11. 54	25. 10. 55
r	21 1/2'	18'
k ₁	14 1/2'	10'
k ₂	50'	45'
me	54	64

Das TEG vom 17. 11. 54 wurde über 6 Stunden verfolgt, um den Unterschied zu einer echten Hämophilie A, die differentialdiagnostisch in Erwägung gezogen werden mußte, zu erkennen. Im Gegensatz zur Hämophilie A nähert sich

die Amplitude der Kurve nach einigen Stunden nicht der Norm. Die jeweils nach 30 bzw. 60 Min. abgelesenen Werte für me sind im Folgenden graphisch dargestellt, zum Vergleich die entsprechenden Werte einer Hämphilie A (U.) (4, 5, 6).

Wertetabelle für me		0	21 1/2	30	60	90	150	210	270	330
me	Hph. B	0	1	12	49	56	49	45	41	39
me	Hph. A	0	0	0	1	37	104	132	138	--



Wie schon erwähnt, ist die Amplitude der Kurve zu schmal. Jedoch kann, wie Versuche gezeigt haben, die Amplitude normalisiert werden, wenn dem Blut oder Plasma *in vitro* Gewebsthrombokinase zugesetzt wird.

Ansatz: 0,04 ccm Thrombokinasesuspension
 0,26 ccm Plasma
 0,06 ccm CaCl_2

	leer	mit Thrombokinase
r	10'	1/2'
k_1	3 1/2'	1 1/2'
k_2	40'	30'
me	72	127

Die starke Verkürzung der Werte für r, k_1 , k_2 ist offensichtlich, ebenso die Normalisierung von me. Es lag nun der Gedanke nahe, denselben Versuch mit Tachostyptan (Hormonchemie-München), einer i.v. verträglichen Partial-Thrombokinase zu wiederholen.

Tachostyptan ist ein Thrombokinasepräparat, das aus frischem Rinderhirn hergestellt wird. Es verkürzt die Gerinnungs- und Recalcifizierungszeit und vermindert die Heparinwirkung *in vitro*. Nach Angaben der Herstellungsfirma sollen noch weitere für die Blutgerinnung bedeutsame Mechanismen im Organismus (wie Abdichtung der Kapillaren, Sensibilisierung der Gefäße gegenüber körpereigenen vasokonstriktischen Substanzen) beeinflusst werden. Das Präparat kann intravenös appliziert werden (7, 8, 9).

Ebenso wurde die Wirkung von Normalserum, das u.a. durch seinen Reichtum an Faktor IX ausgezeichnet ist, untersucht.

a) Nativblut

Ansatz: (1) 0,05 ccm Tachostyptan 1 : 3 mit physiolog. NaCl-Lösung verdünnt
 0,31 ccm Nativblut
 (2) 0,05 ccm Normalserum A_1 , Rh (S.)
 0,31 ccm Nativblut
 (3) Leerversuch

	1	2	3
r	11'	3'	16'
k ₁	3'	2 1/2'	10 1/2'
k ₂	50'	35'	50'
me	82	122	61

b) Citratplasma

- Ansatz:
- (1) 0,05 ccm Tachostyptan wie oben
0,25 ccm Citratplasma
0,06 ccm CaCl₂
 - (2) 0,05 ccm Serum wie oben
0,25 ccm Plasma
0,06 ccm CaCl₂
 - (3) Leerversuch

	1	2	3
r	3'	4'	10'
k ₁	3 1/2'	1 1/2'	3 1/2'
k ₂	45'	25'	45'
me	127	108	72

Die Versuche ergaben eine mehr oder weniger ausgeprägte Normalisierung aller Werte durch Tachostyptan und Normalserum, wobei in letzterem Fall auf die Blutgruppe keine Rücksicht genommen wurde (Patient hat Blutgruppe 0, Rh).

Als nächster Schritt wurde nun Tachostyptan dem Patienten intravenös injiziert, um zu erkunden, ob eine ähnliche Wirkung wie bei den in-vitro-Versuchen zu beobachten ist. Das Experiment wurde 2mal reproduziert, um Fehlerquellen auszuschließen.

(1) vor Injektion

(2) ca. 5 Min. nach Injektion abgenommen

	1	2	1	2
r	20'	12 1/2'	18'	12'
k ₁	10'	7'	10'	7'
k ₂	50'	40'	45'	40'
me	64	85	64	85

Wiederum ist eine annähernde Normalisierung aller Werte erkennbar. Die Vermutung, daß Tachostyptan als Prophylaktikum gegen Blutungen bei manchen Fällen von Hämophilie B von Nutzen sein könnte, wird dadurch bestätigt. Derselbe Versuch mit Stypturon (Dr. Willi Bennd K.G.) zeigte ein anderes Ergebnis. Es erfolgte zwar eine geringe Verkürzung von r, me änderte sich aber nicht im positiven Sinne.

Stypturon ist ein aus natürlich vorkommenden Grundstoffen durch Depolymerisation und Einführung hydrophiler Gruppen hergestelltes niedermolekulares Polygalakturonsäurederivat.

Stypturon soll in der Wunde die Plättchenagglutination und die Bildung eines Verschlußpfropfes beschleunigen. Im strömenden Blut selbst bewirkt Stypturon lediglich eine Labilisierung der Plättchen, d.h. die Ballungsbereitschaft wird heraufgesetzt (10, 11, 12).

	vor	nach Styptur.
r	19 1/2'	15'
k ₁	7'	7'
k ₂	45'	45'
me	85	82

Zusammenfassung:

Es wurde ein Fall von Hämophilie B beschrieben, dessen TEG-Werte in Bezug auf r , k_1 und me pathologisch sind. Eine differentialdiagnostisch in Betracht gezogene Hämophilie A konnte durch den Vergleich des Kurvenverlaufes, eine essentielle Thrombopenie außer durch die Zählung der Thrombocyten im Phasenkontrastmikroskop durch die Normalisierung der TEG-Werte bei Gewebsthrombokinasezusatz ausgeschlossen werden. Intravenös angewandte Partial - Thrombokinase in Form von Tachostyptan ergab in vivo eine annähernde Normalisierung der TEG-Werte.

Abhängigkeit der Komponente me von der Menge der Thrombocyten

Die Festigkeit des Thrombus bei der Blutgerinnung ist neben anderen Faktoren wesentlich von der Menge der zur Verfügung stehenden Plättchen abhängig. Eine Verminderung ihrer Zahl (Thrombopenie), ebenso eine Veränderung ihrer Qualität äußert sich im TEG dadurch, daß r , k_1 über die Norm verlängert sind, während der Wert für me herabgesetzt ist (Kleine Amplitude der Kurve) (13).

TEG's von Thrombopeniepatienten ergaben nun, daß im allgemeinen die Werte für me (bei r ist die Sache nicht so ausgeprägt) erst bei einer Verminderung der Plättchen unter die Hälfte der Norm pathologisch werden. Es lag nun der Gedanke nahe, nachzuprüfen, ob TEG's die von "in vitro" erzeugten Thrombopenien angefertigt werden, mit den aus Patientenblut gewonnenen Ergebnissen übereinstimmen. Damit war auch das Bestreben verbunden, ein Hilfsmittel für eine verbesserte Thrombopeniediagnostik zu finden.

Versuchsanordnung:

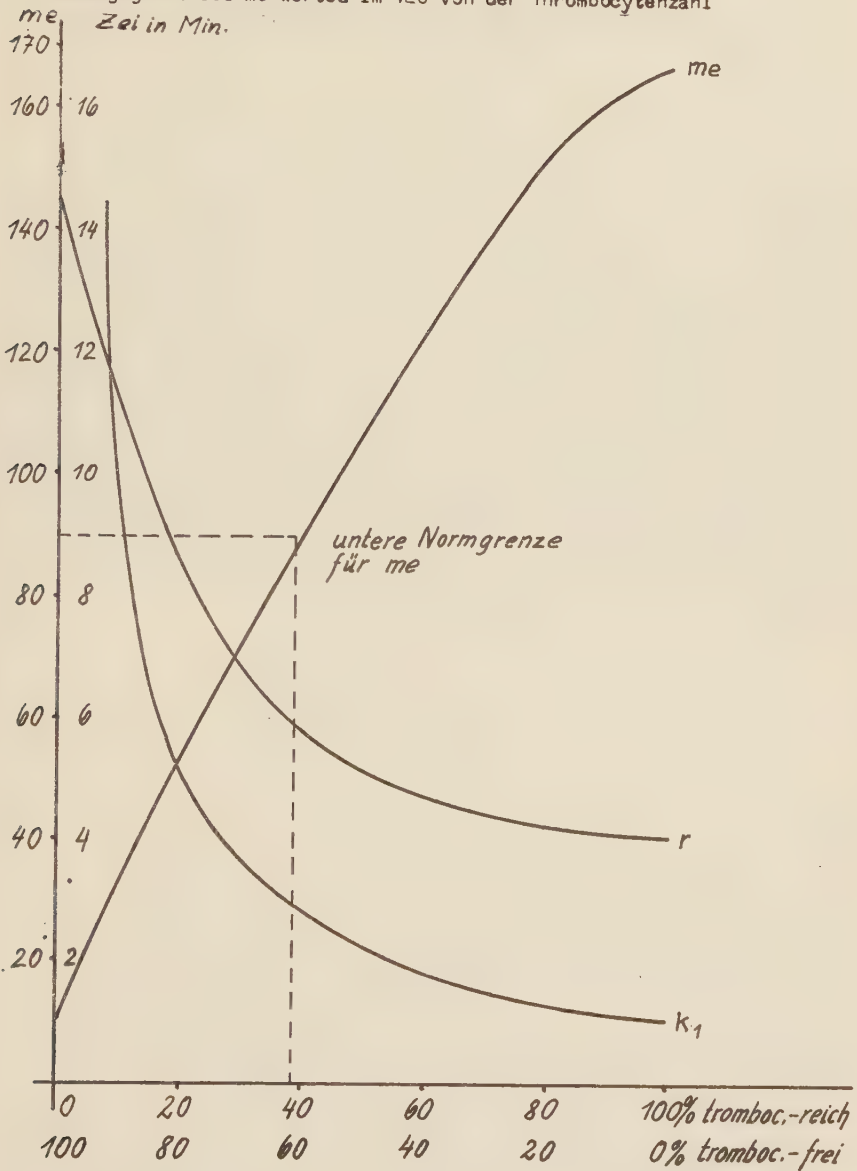
Citratplasma eines in Bezug auf die Gerinnungsfaktoren normalen Spenders wurde durch zweistündiges Zentrifugieren bei 3 000 U/Min. und vorsichtiges Abheben weitgehend von Plättchen befreit. Dieses Plasma wurde dann mit thrombocytenreichem Normalplasma des gleichen Spenders in verschiedenen Verhältnissen gemischt. Die Ergebnisse sind graphisch dargestellt.

Wertetabelle:

$$\frac{\text{Thrombocytenfrei}}{\text{Thrombocytenhaltig}} = \frac{x}{y}$$

$\frac{x}{y}$	$\frac{100}{0}$	$\frac{90}{10}$	$\frac{80}{20}$	$\frac{50}{50}$	$\frac{25}{75}$	$\frac{0}{100}$
r	14'	10 1/2'	8'	5'	4 1/2'	4'
k_1	---	9 1/2'	4 1/2'	1'	1'	1'
k_2	30'	30'	30'	20'	25'	25'
me	12	37	59	113	154	170

Abhängigkeit des me-Wertes im TEG von der Thrombocytenzahl



Wie aus dem Verlauf der Kurven zu ersehen ist, nehmen r und k_1 ab, wenn sich das Verhältnis von thrombocytenfreiem zu thrombocytenhaltigem Plasma zu Gunsten von letzterem verschiebt. Daraus ergibt sich, daß auch die Geschwindigkeit der Gerinnungsbildung in gewissem Maße von der Quantität der Thrombocyten abhängig ist. Natürlich spielen hierbei noch andere Faktoren mit, die jedoch an dieser Stelle nicht näher betrachtet werden sollen. In ähnlicher Weise stellt sich die Festigkeit des Thrombus als abhängig von der Plättchenzahl dar und zwar in der Form, daß me mit steigender Thrombocytenzahl zunimmt. Betrachtet man die Kurve genauer, dann bemerkt man, daß sie in ihrem unteren Anteil steiler verläuft als in ihrem oberen. Daraus resultiert, daß sich me durch Verminderung oder Vermehrung der Thrombocyten bei relativ hoher Plättchenanzahl nur wenig ändert. Eine Variation der Thrombocytenwerte bei relativ niedriger Plättchenzahl wirkt sich auf me stärker aus. Weiter ist ersichtlich, daß erst bei einem Verhältnis von etwa 60 % thrombocytenfreiem zu 40 % thrombocytenhaltigem Plasma für me pathologische Werte sich ergeben. (Die untere Grenze für normales Citratplasma liegt bei $me = 90$). Nimmt man als normale Thrombocytenzahl 250 000 bis 300 000 /cmm, dann resultiert, daß erst Thrombopenien unter 100 000 bis 125 000 /cmm sich im TEG pathologisch auswirken und zwar vor allem im Bezug auf me . Thrombelastogramme von Thrombopenikern bestätigen diese Beobachtung.

Beeinflussung der Komponente me durch
Thrombocytenhomogenisat und -ätherextrakt

I.) Thrombocytenhomogenisat

Nachdem bekannt ist, daß Thrombocyten-saft die Retraktion des Blutkuchens nach Fonio hemmt, schien es von Interesse, nachzuforschen, ob und inwieweit das TEG, insbesondere me dadurch verändert wird. Zu diesem Versuch wurden 3 ccm thrombocytenreiches Citratplasma mit physiolog. NaCl-Lösung auf 30 ccm verdünnt, dieses Gemisch eine halbe Stunde bei 4 000 / Min. zentrifugiert, die Überstehende Flüssigkeit sorgfältig abgesehen, das Zentrifugat in derselben Menge NaCl-Lösung aufgeschwemmt (Thrombocytenväsche), abermals zentrifugiert und das Zentrifugat nach Abgießen der Flüssigkeit in 2 ccm Aqua dest. suspendiert. Die Aufschwemmung wurde über Nacht eingefroren und am nächsten Tag in einer Reibschale zerrieben, wodurch ein Platzen der Thrombocyten und Austritt von Saft erzielt werden sollte. Die Flüssigkeit wurde normalem Citratplasma zugesetzt. Der Versuch wurde 2mal mit verschiedenen Plasmen ausgeführt (A und B).

- Ansatz:
- (1) 0,16 ccm Citratplasma
 0,15 ccm Thrombocyten-saft
 0,05 ccm CaCl_2
 - (2) 0,16 ccm Citratplasma
 0,15 ccm Aqua dest.
 0,05 ccm CaCl_2

	A		B	
	1	2	1	2
r	1 1/2'	5'	2'	4'
k ₁	4'	2'	4'	2 1/2'
k ₂	55'	40'	40'	38'
me	79	122	69	85

Es ergab sich eine Verkürzung r , Verlängerung von k_1 und k_2 sowie eine Verminderung von me . Diese ist aber nur bei relativ hoher Konzentration des Thrombocytenaftes zu erzielen.

II.) Thrombocytenätherextraktierte Tz.

Methode:

Thrombocytenreiches Citratplasma wurde 1/2 Stunde bei 3 000 U/Min. zentrifugiert, die Flüssigkeit abgegossen und das Zentrifugat = Thrombocyten 3mal mit physiologischer NaCl-Lösung und 3,8 %iger Natriumcitratlösung (Verhältnis 10 : 1) gewaschen. Das Zentrifugat wurde nun in etwas physiolog. NaCl-Lösung aufgeschwemmt und in ein Schüttelkölbchen eingebracht. Darauf wurde Äther gegossen und innig mit der Suspension vermenget. Nun wurde der Äther, der sich oben im Kölbchen absetzt, durch einen Hahn abgelassen und die zurückbleibende Flüssigkeit zu den Versuchen verwendet.

- Ansatz:
- (1) 0,16 ccm Citratplasma
0,15 ccm Extrakt
0,05 ccm $CaCl_2$
 - (2) 0,16 ccm Citratplasma
0,15 ccm Aqua dest.
0,05 ccm $CaCl_2$
 - (3) Um eine eventuelle me -depressorische Wirkung von Äther zu erfassen, wurde einem 2. Leerversuch ca. 0,02 ccm Äther zugesetzt.

	1	2	3
r	4'	3 1/2'	2 1/2'
k_1	--	3 1/2'	16 1/2'
k_2	40'	45'	25'
me	4	59	27

Es resultierte eine starke me -Depression durch den Extrakt. Die geringen Spuren von Äther (der Extrakt war fast geruchlos) können dafür nicht verant-

wortlich sein, wie Versuch 3 zeigt. Die relativ sehr hohe Ätherkonzentration bewirkt keine derart starke Verminderung von me . In einem 2. Versuch wurde normalem Citratplasma (S.) der Extrakt in verschiedenen Verhältnissen zugesetzt.

Extrakt	$\frac{50}{50}$	$\frac{25}{75}$	$\frac{10}{90}$	Leerwert
Plasma				
r	3 1/2'	4 1/2'	2 1/2'	5'
k_1	--	3'	2 1/2'	2 1/2'
k_2	27'	35'	30'	30'
me	16	72	104	138

Die me -depressorische Wirkung von Thrombocytenätherextrakt ist auch in geringer Konzentration noch offensichtlich, wie aus obiger Tabelle hervorgeht. Dies bildet einen Gegensatz zur Wirkung von Thrombocytenaft. Jedoch fehlt dem Thrombocytenätherextrakt die eindeutig r -verkürzende Komponente des Thrombocytenaftes.

Beeinflussung der Komponente me durch
Schlangengift

Zu diesem Versuch wurde das Gift der indischen Daboia (Vipera Russellii) verwendet, das die Blutgerinnung in hohem Maße fördert. Es wurde der Inhalt einer Phiole in 10 ccm physiolog. NaCl-Lösung aufgelöst, was eine Giftkonzentration von 1 : 50 000 entspricht.

- 1) Ansatz: 0,25 ccm Citratplasma
0,05 ccm Giftlösung
0,06 CaCl_2

	leer	mit Gift
r	17'	3/4'
k ₁	8 1/2'	1/2'
k ₂	75'	30'
me	233	233

- 2) Wiederholung des Versuches mit einem anderen Plasma (Z., Myeloblasten-leukämie) und Erhöhung der Giftkonzentration (1 : 30 000).

	leer	mit Gift
r	7'	1'
k ₁	7'	11'
k ₂	50'	40'
me	37	32

3) Untersuchung der Wirkung auf Nativblut

Ansatz: 0,05 ccm Giftlösung
0,31 ccm Nativblut (S.)

	leer	mit Gift
r	12'	1 1/2'
k ₁	6'	2'
k ₂	40'	25'
me	108	122

Ergebnis:

Es resultiert in allen drei Fällen eine starke Verkürzung von r gegenüber den Leerwerten, die Verminderung von k₁, die in Fall 1 und 3 deutlich zu sehen ist, kommt in Fall 2 wegen sehr schmäler Kurve des pathologischen Plasmas nicht zum Ausdruck; sie ist aber bei normalen Verhältnissen als Zeichen einer beschleunigten Gerinnungsbildung immer vorhanden. Die Elastizität des Thrombus wird nicht sicher vermindert, bei dem Versuch mit Nativblut scheint sie durch das Gift geringfügig erhöht zu werden.

Beeinflussung der Komponente me durch hochpolymere Substanzen

1.) Kollidon - ein Polymerisat von Vinylchlorid.

Ansatz: 0,25 ccm Citratplasma
0,05 ccm kollidonlösung 20 %ig
0,06 ccm CaCl_2

	leer	mit Gift
r	12'	9'
k_1	4 1/2'	5 1/2'
k_2	35'	40'
me	79	67

Es resultierte eine geringe Verkürzung von r, sowie eine geringe Depression von me. Unter dem Mikroskop waren keine Thrombocytenagglutinate erkennbar, auch nicht bei hoher Konzentration des Kollidon.

2.) Fondin - Methylzellulose.

Zu diesem Versuch wurde zunächst eine 1/2 %ige Aufschwemmung verwendet, die durch Kochen der Methylzellulose in Aqua dest. und darauffolgendem Abzentrifugieren der ungelösten Bestandteile gewonnen wurde.

	leer	mit Fondin
r	7'	6'
k_1	2'	1 3/4'
k_2	29'	32'
me	153	153

Es erfolgte eine geringfügige Verkürzung von r und k_1 , me wurde nicht verändert. Unter dem Mikroskop waren jedoch bei höherer Konzentration des Fondin deutliche Thrombocytenagglutinate zu erkennen. Deshalb wurde bei 3 weiteren Versuchen die Fondinkonzentration auf 1 % erhöht. Die Plasmen wurden dabei von drei verschiedenen Patienten genommen.

Ansatz wie oben.

	leer	mit F.	leer	mit F.	leer	mit F.
r	7'	6'	10 1/2'	5'	8'	9'
k_1	3'	2'	7'	9'	3'	5'
k_2	30'	30'	35'	35'	35'	40'
me	122	117	49	39	119	85

1

2

3

Ergebnis:

r wird in 2 Fällen geringfügig verkürzt, während k_1 zweimal eine Verlängerung erfährt. Die wahrscheinlich auf die Agglutination der Thrombocyten zurückzuführende Depression von me tritt besonders in Fall 2 und 3 deutlich hervor.

Beeinflussung der Komponente me durch Plasmafaktoren

Diese Versuche wurden besonders im Hinblick auf den auf Seite 8 - 15 beschriebenen Fall ausgeführt. Es erschien nicht ausgeschlossen, daß die depressorische Wirkung des Patientenplasmas einem bestimmten Plasmafaktor zuzuschreiben ist.

- 1.) Faktor V.
- 2.) Faktor VII
- 3.) Acc 76

1.) Faktor V, lyophil getrocknet, standardisiert.

Ansatz: 0,26 ccm Plasma
 0,05 ccm Faktor V - Lösung in physiolog. NaCl-Lösung entsprechend 2 mg%
 0,05 ccm CaCl_2

	leer	mit Faktor V
r	4 1/2'	4'
k_1	1'	3/4'
k_2	30'	30'
me	177	177

Faktor V bewirkte in der verwendeten Konzentration außer einer geringen Verkürzung von r und k_1 keine Veränderung der TEG-Werte.

2.) Faktor VII (Convertin, lyophil getrocknet, standardisiert.

Ansatz: 0,16 ccm Plasma
 0,15 ccm Faktor VII-Lösung in physiolog. NaCl-Lösung entsprechend 0,2 g%
 0,05 ccm CaCl_2

	leer	mit Faktor VII
r	2'	2'
k ₁	2'	1'
k ₂	45'	25'
me	108	117

Es ergab sich eine Verkürzung von k₁ und k₂ (Beschleunigung der Gerinnungsbildung), sowie eine geringe Verbesserung der Thrombuselastizität. Auf einen Versuch mit einer geringeren Konzentration konnte verzichtet werden, da es Ziel dieser Versuche war, nach me-hemmenden Substanzen zu forschen, wozu Faktor VII offensichtlich nicht gehört.

Acc 76.

Acc 76 ist eine Kombination, der dem menschlichen Serum eigenen Acceleratorsubstanzen Convertin (Faktor VII) und Accelerin Faktor VI, sowie Faktor IX und XI. Nach Dialyse und lyphiler Trocknung stellt es ein farbloses Produkt dar, das sich in physiolog. NaCl-Lösung schnell und ohne Rückstand löst. (14)

Ansatz: 0,16 ccm Plasma
 0,15 ccm Acc 76 entsprechend 0,22 g%
 0,05 ccm CaCl₂

	leer	mit Acc 76
r	3'	1 1/4'
k ₁	1 1/4'	5 1/2'
k ₂	38'	20'
me	115	39

Es ergab sich bei relativ hohen Konzentrationen eine merkliche Verkürzung von r und k_2 . k_1 , das proportional der Gerinnselbildungszeit ist, wird bei diesem Versuch verlängert, was durch die starke Depression von me und damit Verschmälerung der Kurve zu erklären ist. An und für sich fördert Acc 76 die Gerinnselbildung, wie man in Versuch 2, der mit einer 100fach geringeren Acc 76-Konzentration ausgeführt wurde, erkennen kann.

2.) Ansatz: 0,26 ccm Plasma
0,05 ccm Acc 76 entsprechend 2 mg%
0,06 ccm $CaCl_2$

	leer	mit Acc 76
r	5 1/2'	4 1/2'
k_1	2'	1'
k_2	30'	30'
me	150	133

r und k_1 werden verkürzt, daneben erfolgt auch bei dieser relativ geringen Konzentration eine meßbare Depression von me .

Untersuchungen über eine mögliche Beeinflussung der Komponente me durch Eiweißfraktionen (14)

Versuchsordnung.

Die Eiweißstickstoffsubstanzen wurden in NaCl-Lösung entsprechend der gewünschten Konzentration gelöst und einem Citratplasma nach einem bestimmten Ansatz (s. u.) in Glasröhrchen beigemischt. Darauf erfolgte das Abpipettieren in die Küvette und die Recalcifizierung. Eiweißlösungen (Albumin human und ~~g~~-Globulin human mit Zusätzen) wurden entsprechend verdünnt zugesetzt. Die Konzentration in g% beziehen sich auf die gesamte Füllung der Küvetten inklusive Recalcifizierungsflüssigkeit.

Ansatz: 0,3 ccm Citratplasma
0,1 ccm Substrat
Abpipettieren von
0,31 ccm Recalcifizierung mit
0,05 ccm CaCl_2

1.) Albumin human, Behringwerke Op. 789. 4,4 g% und 2,2 g%

	leer	2,2 g%	4,4 g%
r	3'	3'	3 1/2'
k ₁	1 1/2'	2'	2 3/4'
k ₂	40'	40'	45'
me	117	108	100

2.) Serumalbumin, trocken, reinst vom Rind, Behringwerke
Op. 15 955, 5,5 g%, 2,75 g% und 1,4 g%.

	a		b		
	leer	5,5 g%	leer	2,75 g%	1,4 g%
r	4 1/2'	7 1/2'	6 1/2'	6'	6 1/2'
k ₁	1 1/4'	2 1/2'	2'	3 1/2'	3'
k ₂	30'	50'	30'	16'	20'
me	144	144	104	64	45

3.) Humanalbumin, trocken, reinst, Behringwerke Op. 151 257.

	a			b			
	leer	5,5 g%	2,75 g%	leer	2,75 g%	2,2 g%	1,4 g%
r	5 1/2'	5'	3'	3 1/2'	3'	3'	3'
k ₁	2'	5 1/2'	1 1/2'	1'	1 1/2'	3/4'	3/4'
k ₂	35'	5 1/2'	14'	30'	7'	30'	30'
me	104	25	72	212	117	212	212

	leer	2,75 g%	1,4 g%
r	6 1/2'	5'	5 1/2'
k ₁	2'	2 1/2'	2'
k ₂	30'	6'	30'
me	104	54	100

4.) γ -Globulin human, Behringwerke, Op. 676/686 mit Cialitzusatz

	leer		7 g%	leer		0,7 g%	leer		2,75 g%	5,5 g%
r	4 1/2'	5'		8 1/2'	10 1/2'		4'	3'		3'
k ₁	1 1/2'	4 1/2'		2'	2 1/2'		1'	1'		1 1/2'
k ₂	30'	9 1/2'		35'	32'		28'	25'		20'
me	178	27		222	178		163	127		82

5.) γ -Globulin Rind, trocken, reinst, Op. 19 854, Behringwerke.

	leer	2,75 g%	5,5 g%
r	4'	4'	4 1/2'
k ₁	1'	1'	1 1/2'
k ₂	30'	28'	28'
me	163	156	144

6.) γ -Globulin, trocken, reinst, Behringwerke.

	leer	4,1 g%
r	6 1/2'	4'
k ₁	2 1/2'	2'
k ₂	50'	40'
me	112	108

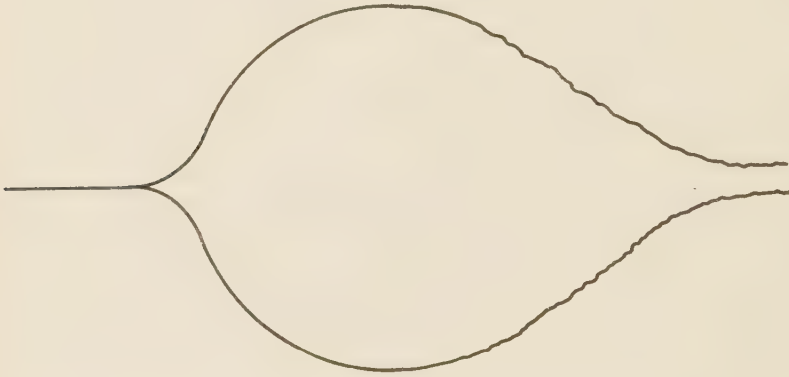
Diskussion der Ergebnisse:

Zu 1): Albumin human bewirkt eine geringe me-Depression bei der relativ hohen Konzentration von 4,4 g%.

Zu 2): Durch Serumalbumin reinst vom Rind wurde keine eindeutige me-Depression bewirkt. Im Fall a) zeigt sich, trotz der hohen Konzentration von 5,5 g% keine Beeinflussung von me. Die Depression in Fall b) ist keine echte, da die Kurve schon lange vor Erreichen der maximalen Elastizität, was aus den niedrigen Werten für k₂ zu ersehen ist, infolge einer Pseudofibrinolyse wieder abfiel (schraffierte Tabellen). Daß dies in Fall a), bei dem doch eine noch höhere Konzentration verwendet wurde, nicht zu beobachten war, mag wohl daran liegen, daß nicht jedes Plasma gleich auf Eiweißbeimengung reagiert. Daß keine echte Depression vorliegt, zeigt ferner die geringe Differenz von k₁ gegenüber dem Leerwert (die Gerinnselbildung wird also kaum beeinflusst.)

Zu 3): Bei der Verwendung von Humanalbumin reinst treten ähnliche Erscheinungen auf, wie bei den Versuchen mit Rinderalbumin. Wiederum wurde eine Pseudofibrinolyse, deren Ursache wahrscheinlich ein Ablösen des Gerinnsels von der Küvettenwand ist, beobachtet. Das Experiment a) mit 5,5 g% und

2,75 g% wurde 4mal mit jeweils verschiedenen Plasmen wiederholt, um etwaige technische Fehler auszuschließen. Es ergab sich im wesentlichen immer dasselbe, nämlich, daß die Kurve nach relativ schnellem Anstieg kurze Zeit später (siehe kurzes k_2) in unregelmäßigen Zacken wieder abfiel und die Amplitude sich nach etwa 90 Min. fast dem Nullwert näherte.



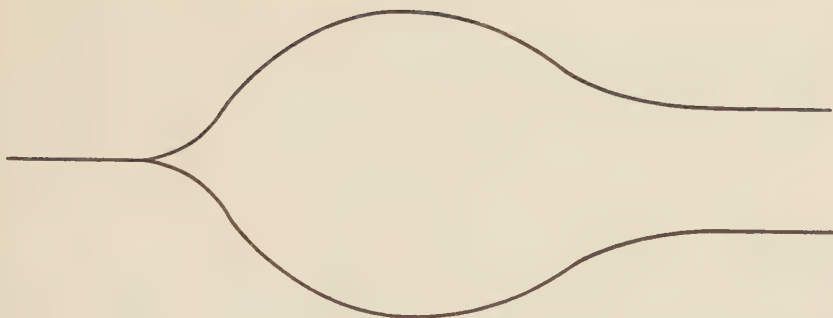
Um die Konzentrationsabhängigkeit dieser Pseudofibrinolyse zu prüfen, wurde der Versuch b) unternommen. Es ergab sich bei 2,2 g% und 1,4 g% keine Pseudofibrinolyse und gleichzeitig keine me-Depression mehr.

Versuch c) - es wurde hier wiederum ein anderes Plasma verwendet - zeigt dasselbe. 2,75 g% bewirken ein vorzeitiges Abreißen des Gerinnsels (k_2 nur 6'), die geringe Depression bei 1,4 g% liegt im Bereich der Fehlerquellen.

Zusammenfassend kann man also schließen, daß Albumin (mit Zusätzen) eine Depression bewirkt, daß weiterhin reinstes Albumin in höherer Konzentration eine Pseudofibrinolyse, in geringerer Konzentration keine me-Depression verursacht.

Globulin.

Zu 4): γ -Globulin mit Zusätzen bewirkt in sehr hoher Konzentration (Fall a) 7 g%) eine starke me-Depression. Die Kurve ist birnenförmig, was durch eine Thrombuserschaffung (jedoch nicht durch Abreißen des Gerinnsels wie oben) bedingt ist.



Um zu erforschen, ob diese Depression nicht ebenfalls wie bei reinstem Albumin eine scheinbare ist, wurde in b) eine 10fach geringere Konzentration (0,7 g%) genommen, wobei jedoch ebenso wie in Fall c) eine meßbare Depression zu beobachten war. Wiederum wurden nun zur Kontrolle reinste γ -Globuline benutzt.

Zu 5 u. 6): γ -Globulin reinst vom Rind und γ -Globulin reinst human bewirkten, trotz der relativ hohen Konzentration nur eine geringe me-Depression.

Ein zusammenfassender Vergleich der Ergebnisse von 4 mit 5 und 6) zeigt, daß für den depressorischen Effekt von γ -Globulin in hohem Maße wohl die Zusätze verantwortlich sind. Allerdings verursacht reinstes γ -Globulin in hoher Konzentration ebenfalls eine geringe me-Depression.

Untersuchungen über die Beeinflussung der
Komponente me bei Mischung von gruppenglei-
chem bzw. gruppenverschiedenem Citratplas-
ma und -Blut

Versuchsanordnung:

Die zu mischenden Citratplasmen (bzw. - Blut) wurden in kleine Glasröhrchen eingebracht und durch mehrmaliges Umschwenken gemischt. Darauf erfolgte die Einfüllung in die Kuvette. Die Leerwerte wurden direkt aus den Reagenzgläsern in die Kuvette pipettiert.

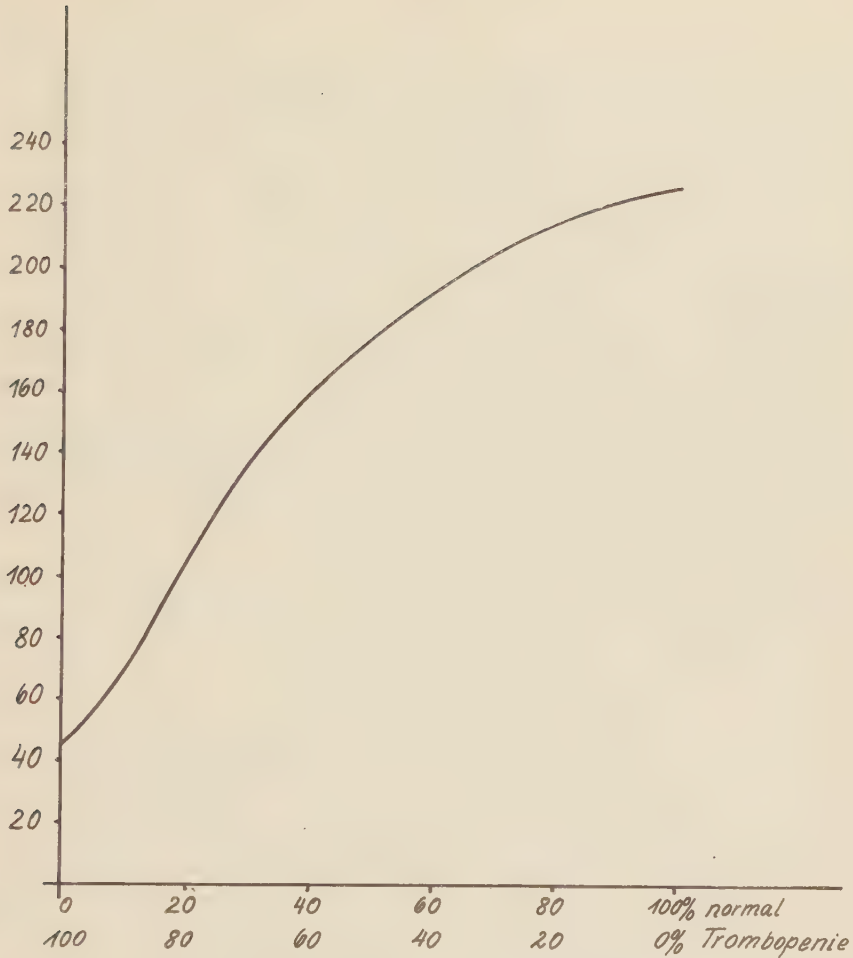
A) Gruppengleiche Citratplasmen.

1.) Mischung von Citratplasma A₁ (S. normal - Dr. V. Thrombopenie).

	S.	Dr. V.	Mischung
r	7 1/2'	13'	4'
k ₁	2 1/2'	7'	2'
k ₂	40'	40'	35'
me	138	57	129

2.) Citratplasma 0 (Se. Thrombopenie - H. normal)

Bei diesem Versuch wurden die Plasmen in verschiedenen Verhältnissen gemischt, und die me-Werte sind in Folgendem graphisch dargestellt.



Wertetabelle für die Kurve:

normal %	100	75	50	25	10	0
Thrombop. %	0	25	50	75	90	100
r	10'	6 1/2'	8'	6'	6 1/2'	10'
k ₁	3'	1 1/2'	2'	2'	3'	7 1/2'
k ₂	50'	38'	40'	40'	43'	58'
me	233	212	178	122	79	47

r , k_1 und k_2 zeigen keine gesetzmäßige Änderung. Wie aus den beiden Tabellen (1 und 2) zu entnehmen ist, werden die Reaktionszeiten in den Mischungen gegenüber den Leerwerten verkürzt, was bes. in Fall 1) deutlich wird. Eine Verkürzung von k_1 ist weniger offensichtlich. Die me -Werte der 50 : 50 Mischungen liegen nicht, wie eigentlich zu erwarten wäre, in der Mitte zwischen den Ausgangswerten, sondern darüber. Dies geht auch aus der konvexen Form der Kurve bei Fall 2) hervor. Die me -Werte, die sich aus Mischungen von thrombocytenfreiem und thrombocytenhaltigem Plasma ergeben, (wobei das Plasma von demselben Spender stammt) liegen dagegen annähernd auf einer Geraden, die erst in ihrem oberen Bereich einen Knick aufweist (S. 23). Es erscheint möglich, daß durch den Reiz, der durch ein Fremdplasma (auch wenn es gruppengleich ist) ausgeübt wird, eine größere Festigkeit des Thrombus resultiert. Eine Ausnahme bilden natürlich die Fälle, die pathologische me -depressorische Stoffe im Blut aufweisen (s.S.8 bis 15, Parameyoloblastenleukämie).

3.) Gruppengleiches Citratblut von Nichtverwandten

- (1) Citratblut A_1 Rh normal (S.)
- (2) " A_1 Rh normal (N.)
- (3) Mischung

	1	2	3
r	6'	6 1/2'	4'
k_1	4'	4'	3 1/2'
k_2	25'	30'	25'
me	102	110	118

4.) Citratblut von eineiigen Zwillingen

- (1) Helga S. normal
- (2) Marion S. normal
- (3) Mischung

	1	2	3
r	5 1/2'	5 1/2'	5 1/2'
k ₁	4'	5'	4 1/2'
k ₂	40'	40'	40'
me	108	113	108

Auch bei Mischungen von Normalblut scheint die Erscheinung aufzutreten, daß der me-Wert der Mischung über dem arithmetischen Mittel der Ausgangswerte liegt, ebenso ist eine Verkürzung von r und k₁ zu bemerken.

Im Gegensatz dazu konnte bei Mischung von Blut eineiiger Zwillinge Derartiges nicht beobachtet werden. r, k₁ und me werden in der Mischung nicht verändert, so daß man annehmen kann, daß das beobachtete Phänomen nur bei einander fremden Individuen auftritt.

Die oben erwähnte Reizwirkung eines Fremdplasmas im Sinne einer größeren Thrombusfestigkeit und damit eines höheren Wertes für me ist bei Mischungen von Plasmen verschiedener Blutgruppen noch deutlicher.

B) Mischungen von gruppenungleichen Citratplasmen.

1.) O, Rh (Se. Thrombopenie)

A₁, Rh (S. normal)

	O, Rh	A ₁ , Rh	Mischung
r	8'	9'	4 1/2'
k ₁	--	6 1/2'	1 1/2'
k ₂	22'	60'	38'
me	13	96	194

2.) B, Rh (H. Thrombopenie)

A₁, Rh (Polycythämie, Thrombopathie)

	B, Rh	A ₁ , Rh	Mischung
r	10'	20'	7'
k ₁	7'	8'	2 1/2'
k ₂	40'	55'	35'
me	59	79	110

3.) O,Rh (Se. Thrombopenie)

A₁,Rh (N.N. normal)

	O,Rh	A ₁ ,Rh	Mischung
r	8'	4 1/2'	3 1/2'
k ₁	35'	1 1/2'	1'
k ₂	35'	25'	30'
me	25	138	130

4.) A₂B,Rh (M. normal)

O₂,Rh (H. Normal)

	A ₂ B,Rh	O,Rh	Mischung
r	10'	9'	9'
k ₁	4'	3'	3 1/2'
k ₂	45'	40'	42'
me	117	257	212

5.) O,Rh (S. Thrombopenie)

A₂B,Rh (M. normal)

	O,Rh	A ₂ B,Rh	Mischung
r	10'	5'	4 1/2'
k ₁	7 1/2'	2'	1 1/2'
k ₂	50'	35'	30'
me	47	177	100

6.) O,rh (G. normal)

B,Rh (H. normal)

	O,rh	B,Rh	Mischung
r	4'	5'	3'
k ₁	1 1/2'	3'	1/2'
k ₂	40'	35'	30'
me	165	112	203

7.) A₁,Rh (S. normal)
 A₁,Rh (Hu. normal)

	A ₁ ,Rh	A ₁ B ₁ ,Rh	Mischung
r	4'	6 1/2'	2'
k ₁	2'	1 1/2'	3/4'
k ₂	35'	40'	35'
me	117	233	177

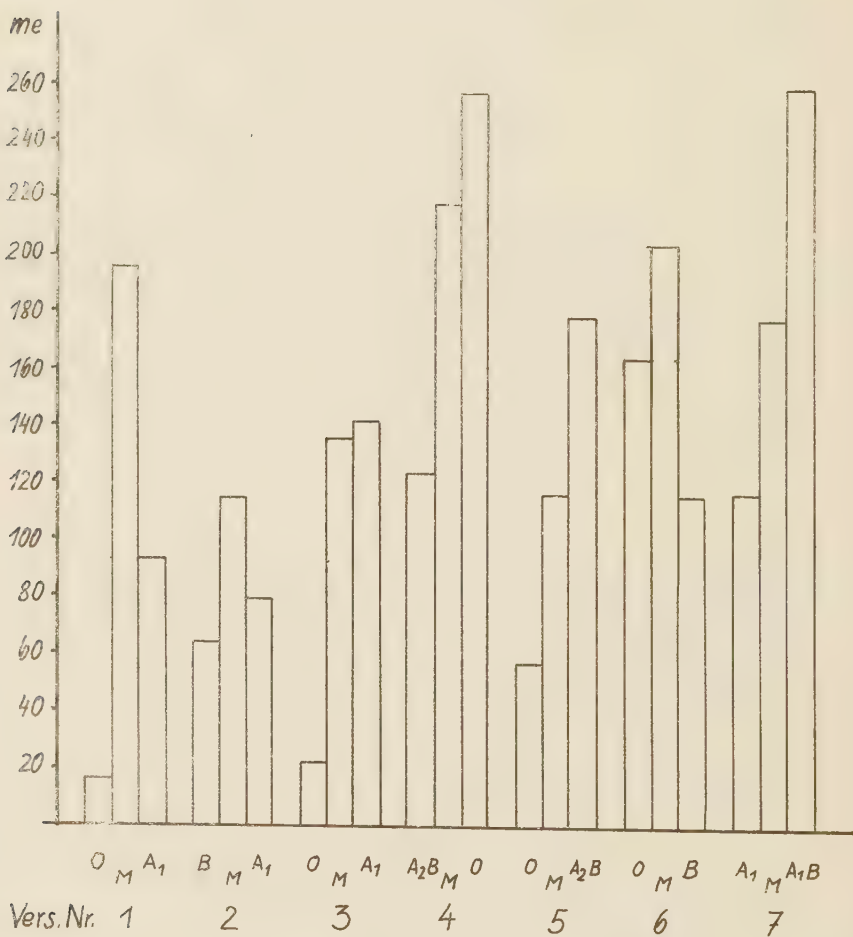
Die verschiedenen me-Werte bei Se. (1, 3, 5) sind nicht auf methodische Fehler im TEG, sondern auf den Erfolg der Therapie zurückzuführen. Die manchmal recht langen Reaktionszeiten bei Normalen erklären sich dadurch, daß das TEG aus technischen Gründen erst am 1. oder 2. Tag nach der Blutentnahme durchgeführt werden konnte, was eine Änderung des Gerinnungssystems und somit verlangsamte Gerinnselbildung zur Folge hat. Die me-Werte, deren Betrachtung Zweck dieser Versuche war, wurden jedoch nicht wesentlich dadurch verändert.

Zusammenfassende Betrachtung:

Die Reaktionszeiten sind in den Mischungen fast durchwegs gegenüber den Leerwerten verkürzt, in Fall 1) und 2) sogar recht offensichtlich. Ebenso ist k₁ fast stets vermindert. Die me-Werte liegen in 3 Fällen (1, 2, 6) über denen der Leerwerte. Diese Erscheinung konnte auch einmal bei der Mischung von gruppengleichem Nativblut (F. me + 69, Se. me = 104, Mischung me = 127) beobachtet, jedoch nicht mehr reproduziert werden.

Eine graphische Darstellung der me-Werte soll die Versuchsergebnisse übersichtlicher gestalten.

Mischungseffekte von gruppengleichen thrombocytenhaltigen, recalcifizierten Citratplasmen hinsichtlich me im TEG

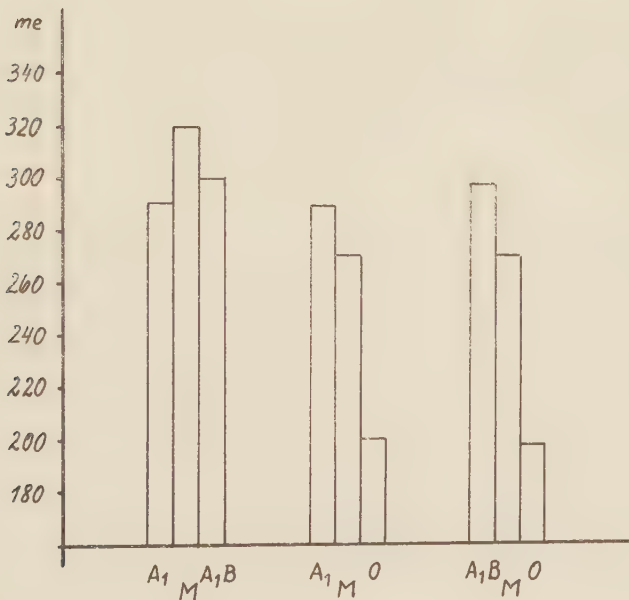


In einer ergänzenden Versuchsreihe wurden nun als Ausgangswerte normale Spender mit sehr hoher me verwendet und dabei folgende Ergebnisse gefunden.

- | | |
|---------------------------|----------------------------|
| (1) Citratplasma A_1 Rh | (4) Mischung $A_1 - A_1 B$ |
| (2) " $A_1 B$ Rh | (5) " $A_1 - O$ |
| (3) " O Rh | (5) " $A_1 B - O$ |

	1	2	3	4	5	6
r	4 1/2'	6'	5 1/2'	5'	5'	5 1/2'
k ₁	1'	1'	2'	3/4'	3/4'	1 1/4'
k ₂	20'	30'	30'	25'	25'	30'
me	284	300	194	317	270	270

Graphische Darstellung:



Es zeigt sich wiederum, daß auch bei hohen Ausgangswerten me der Mischungen beträchtlich über der arithmetischen Mitte liegen, in Fall 4 wiederum über den Ausgangswerten. Das beobachtete Phänomen einer gelegentlichen Superaddition von me tritt also auch hier auf, wenn es auch bei relativ niedrigen Ausgangswerten noch deutlicher zu Tage tritt.

Um zu erforschen, ob sich auch bei Mischung von gruppenverschiedenem Citratblut Ähnliches ergibt, wurden folgende Versuche gemacht:

Mischungen von gruppenfremdem Citratblut.

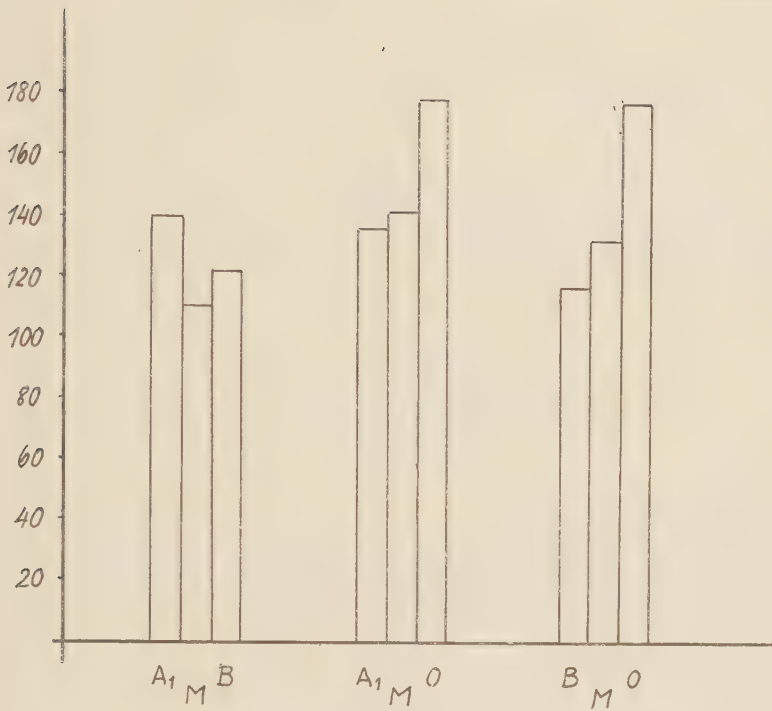
A₁Rh (S. normal)

B₁Rh (H. normal)

O₁Rh (G. normal)

	A ₁ Rh	B ₁ Rh	O ₁ Rh	A ₁ + B	A ₁ + O	B + O
n	4'	5'	4'	4'	3'	3 1/2'
k ₁	3'	3'	2'	3'	1 1/2'	2'
k ₂	35'	35'	40'	40'	35'	40'
me	129	112	165	103	133	129

Die Verknüpfung von n ist hier weniger ausgeprägt als bei den Versuchen mit Citratp. normal, was an den relativ kurzen Reaktionszeiten der Ausgangswerte liegt. Es wurde hier nicht erst die Blutsenkung abgewartet, sondern die Versuche wurden schon innerhalb weniger Stunden nach der Blutentnahme durchgeführt. Die me -Werte sind wiederum graphisch dargestellt.



Wenn man die Darstellung mit der vorigen (S. 46) vergleicht, bemerkt man, daß die *me*-Werte bei Mischung von Citratblut relativ tief liegen (bei Mischung von A₁ und B sogar unter den Ausgangswerten). Um zu erforschen, ob die Agglutination der Erythrocyten (vielleicht auch der Thrombocyten) durch die Antikörper des gruppenfremden Blutes die Festigkeit des Thrombus herabsetzt, wurde dem A₁- und B-Citratblut ca. 1/7 eines A₁-Serums zugesetzt. Wenn die Annahme, daß die Verklumpung oder Zerstörung der roten Blutkörperchen die Ausbildung eines festen Gerinnsels erschwert, gerechtfertigt ist, müßte eine geringe *me*-Depression erfolgen, wenn man dem A₁-Citratblut gruppengleiches Serum zusetzt. (Auf die Erscheinung, daß Serum die Elastizität des Thrombus in geringem Maße herabsetzt, wird später noch eingehender eingegangen.)

Wenn man dagegen dem B-Citratblut das A₁-Serum beimischt, müßte sich die durch die Anti-B-Körper des Serums verursachte Agglutination der Erythrocyten

im TEG im Sinne einer starken me-Depression auswirken.

Ansatz: 0,25 ccm B-Citratblut

0,05 ccm Serum A₁

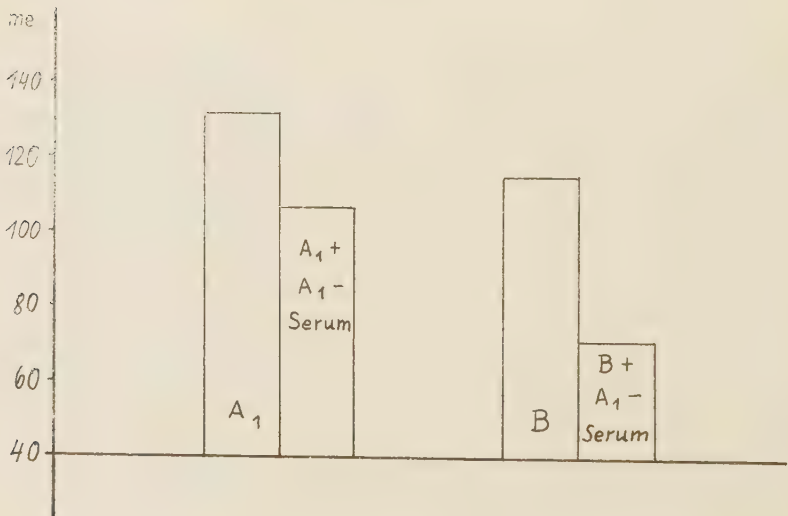
0,06 ccm CaCl₂

	A ₁ + Serum	B + Serum
r	2 1/2'	3'
k ₁	2'	4'
k ₂	30'	30'
me	103	66
me Leerwert	129	112

Ergebnis:

r wird im Vergleich zu den Leerwerten verkürzt, was durch die Anwesenheit von bestimmten gerinnungsfördernden Faktoren im Serum zu erklären ist. Die Annahme, daß der me-Wert von B gegenüber A₁ relativ niedriger liegt, wird durch den Versuch bestätigt.

Graphische Darstellung



In einem Parallelversuch, bei dem B-Citratplasma mit A₁-Serum gemischt wurde, konnte diese starke me-Depression nicht beobachtet werden.

In welcher Weise hämolyisierte Blutkörperchen hemmend auf die Thrombusbildung wirken, tritt in folgendem Versuch deutlich hervor.

Citratblut wurde mit Aqua dest. im Verhältnis 1 : 2 gemischt, wodurch eine vollständige Hämolyse erzielt wurde. Im Kontrollversuch trat an die Stelle von Wasser physiolog. NaCl-Lösung, um den Verdünnungseffekt zu erfassen. Parallel lief derselbe Versuch mit Citratplasma (Ausschaltung der Erythrocyten).

- (1) Citratblut + NaCl-Lösung 1 : 2
- (2) " + Aqua dest. 1 : 2
- (3) Citratplasma + NaCl-Lösung 1 : 2
- (4) " + Aqua dest. 1 : 2

	1	2	3	4
r	10'	---	7'	5'
k ₁	14'	---	8'	--
k ₂	35'	---	35'	40'
me	39	kaum 1 mm	49	13

Der Versuch ergab, daß hämolyisiertes Citratblut kaum gerinnt und bringt eine weitere Bestätigung der Vermutung, daß zerstörte Erythrocyten sich hemmend auf die Thrombusbildung auswirken. Weiters geht eindeutig hervor, daß auch andere hämolyisierte Blutbestandteile (Leuko- und Thrombocyten) eine feste Gerinnseibildung verhindern. Versuch 4) zeigt gegenüber 3) eine deutliche Verringerung von me.

Alle Mischungen, ob gruppengleich oder gruppenfremd, haben die Verkürzung von r gemeinsam. Um zu untersuchen, ob diese Erscheinung ihre Ursache im Kontakt des Plasmas (bzw. Blutes) mit Glas hat (die Substrate wurden, wie schon erwähnt, in Glasröhrchen durch mehrmaliges Umschütteln gemischt), wurde Citratplasma wie bei der Anfertigung eines normalen TEG in die Küvette eingefüllt und parallel dazu dasselbe Plasma, das jedoch zuvor in einem Glasröhrchen mehrmals umgeschwenkt wurde.

(1) Plasma normal

(2) Plasma aus Glasröhrchen

	1	2
r	6 ^v	4 3/4 ^v
k ₁	2 ^v	1 1/2 ^v
k ₂	35 ^v	30 ^v
me	133	133

Es ergab sich, daß tatsächlich r , k_1 und k_2 verkürzt werden, wenn Citratplasma vorher in innigem Kontakt mit Glas gebracht wird. Es ist jedoch unwahrscheinlich, daß die Verkürzung von r bei den Mischungsversuchen nur diesen Grund hat. Das Plasma wurde in obigem Versuch, um die Unterschiede zwischen 1 und 2 möglichst deutlich zu machen, etwa viermal öfter umgeschüttelt, als in den Mischungsversuchen. Trotzdem ergab sich, wenn man z.B. Fall B₁) und 2) (S. 43-44) betrachtet, nur eine relativ geringe Änderung der Größen r , k_1 und k_2 .

k_2 erfährt übrigens bei den Mischungsversuchen keine eindeutige Verkürzung. Die Größe me , deren Studium der eigentliche Zweck dieser Arbeit ist, wird durch den Kontakt mit Glas nicht verändert.

Beeinflussung der Komponente me durch

Sera

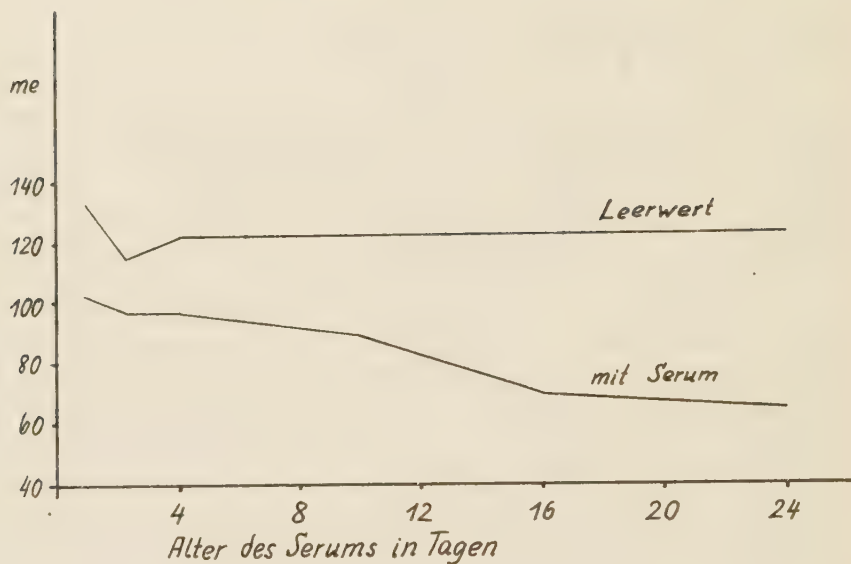
- 1.) Depressorische Wirkung bes. von Altserum
- 2.) "Retraktions-Co-Faktor" (Hartert) (15)

1.) Durch seinen Reichtum an bestimmten Gerinnungsfaktoren wirkt Serum fördernd auf die Ausbildung des Blutgerinnsels. Dies äußert sich beim Hinzufügen von Serum zu Nativblut oder Citratblut (bzw. -plasma) im TEG vor allem in einer mehr oder weniger ausgeprägten Verkürzung der Reaktionszeit. Eine Verminderung der Gerinnselbildungszeit k_1 ist weniger ausgeprägt. Beim Zumischen von größeren Mengen Serum zu Nativblut oder Citratplasma (also etwa im Verhältnis 1 : 1) ist k_1 sogar verlängert. Verantwortlich dafür ist eine gewisse me-depressorische Wirkung von Serum. Die Kurve verläuft dadurch flacher und deshalb wird auch die Zeit, die zum Erreichen der Amplitude 20 mm notwendig ist (k_1), länger. Um diese depressorische Wirkung eingehender zu beobachten und die Hypothese, daß bes. alterndes Serum me-depressorische Substanzen enthalte, zu erhärten, wurden zwei Versuchsreihen angesetzt.

In Reihe I wurde Nativblut jeweils mit der gleichen Menge Serum gemischt, also im Verhältnis 1 : 1. Im Leerversuch trat physiolog. NaCl-Lösung an die Stelle von Serum. Letzteres stammte jeweils von dem gleichen Spender wie das Nativblut (S.) und wurde durch Defibrinieren des Nativblutes und Abzentrifugieren der Erythrocyten gewonnen. Die Aufbewahrung erfolgte im Kühlschrank bei ca. 2° C.

Der besseren Übersicht halber sind die Ergebnisse im Folgenden graphisch dargestellt.

Versuchsreihe I



In einer 2. Versuchsreihe wurde natives Serum (aus Nativblut nach Retraktion des Blutkuchens gewonnen) dem Citratplasma desselben Spenders (S.) in einer geringeren Konzentration als bei Versuch I beigemischt.

Ansatz: 0,05 ccm Serum
0,25 ccm Plasma
0,06 ccm CaCl_2

Aus der graphischen Darstellung ergibt sich, daß der me-depressorische Effekt bedeutend kleiner ist, was auf die geringere Serumskonzentration zurückzuführen ist. Desgleichen vergrößert sich der Abstand zwischen beiden Kurven kaum. Die me-depressorische Wirkung von alterndem Serum kann also nur bei Verwendung von höheren Konzentrationen beobachtet werden.

Versuchsreihe II



Um die depressorischen Faktoren näher zu differenzieren, wurden vergleichsweise Versuche mit ausgeschütteltem Serum durchgeführt. (2 ccm Serum wird mit 0,2 g BaSO_4 in ein Zentrifugenglas eingebracht, durchgeschüttelt, 5 Min. in den Brutschrank gestellt, das BaSO_4 abzentrifugiert und das Serum abgegossen. Letzteres wird nochmals mit 0,2 g BaSO_4 ausgeschüttelt und wie oben behandelt). Es zeigte sich jedoch, daß auch ausgeschütteltes Serum noch Hemmungs-faktoren aufweist.

2.) "Retraktions-Co-Faktor" im Serum

(me-Serumfaktor im Testsystem Fibrinogen - Reinhrombin)

Die Versuche gründen auf Untersuchungen von Hartert (15). Er fand, daß ein Gemisch von Fibrinogen und Thrombin ein schlaffes Gerinnsel ergibt. Zugabe von gewaschenen Blutplättchen, sowie Calcium, alles in optimaler Konzentration, änderte daran kaum etwas. Erst nach Hinzufügen von 1/10 Volumen Normalserum beobachtete er Normalisierung der elastischen Festigkeit.

Um diese Ergebnisse nachzuprüfen, wurde folgender Versuch angesetzt. Lyophil getrocknetes Fibrinogen (Behringwerke) vom Rind wurde entsprechend einer Konzentration von 1 g% in physiolog. Kochsalzlösung gelöst, desgleichen Thrombinum purum, Behringwerke, entsprechend 1,25 EH/ccm. Diese Konzentrationen wurden nicht willkürlich gewählt, sondern gehen auf Vorversuche von Marx und Köppel(1955) zurück.

Es ergab sich, wie erwartet, ein schlaffes Gerinnsel. Nun wurde Serum zugemischt in folgendem Mengenverhältnis:

- 1 Teil Fibrinogen - Lösung
- 1 Teil Thrombin - Lösung
- 1/10 Vol. Serum

Von diesem Gemisch wurden 0,36 ccm in die Küvette pipettiert. Der Versuch erforderte schnelles Arbeiten, da die Reaktionszeit eines Fibrinogen-Thrombingerinnsels sehr kurz ist. Es ergab sich eine bedeutende Verbesserung der Thrombuselastizität, jedoch keine Normalisierung. Bei weiteren Experimenten zeigte sich, daß nicht jedes Serum in gleicher Weise wirkt, sondern daß das System durch Serum um so weniger aktiviert wird, je "pathologischer" das Ausgangsblut ist.

- (1) Leerwert
- (2) Normalserum, Nativblutwert für me: ca. 100
- (3) Thrombopathie
- (4) Thrombopathie, Typ Naegeli (I. Le.)
- (5) Thrombopenie (Dr. V.)

	1	2	3	4	5
r	3 1/2'	2'	2 1/2'	2'	2'
k ₁	----	2'	----	----	4'
k ₂	----	----	----	----	----
me	12	40	22	11	28

Es lag nun der Gedanke nahe, diese Tatsache zu einem Serumtest zu verwenden. Gleichzeitig drängte sich die Frage auf, wo der Serum-C₀-Faktor zu suchen sei. In einer umfangreichen Versuchsreihe wurden nun verschiedene Sera und andere Substanzen auf ihre Wirksamkeit untersucht. Die Hauptschwierigkeit

bei den Experimenten lag darin, daß mit den anfangs verwendeten Thrombin keine eindeutigen Ergebnisse erzielt werden konnten. Es handelte sich um Topostasin (La Roche), das zur lokalen Blutstillung benützt wird und offenbar so zusammengesetzt ist, daß der Test ungenau wird. Weiterhin mußte erst die optimale Thrombin-Fibrinogenkonzentration erkundet werden. Ist letztere zu hoch, dann ist die Amplitude der Kurve auch ohne Zusatz von Serum bereits sehr groß. (Es wurden bei Konz. von 2 g% me-Werte bis 100 beobachtet.) Die Thrombinkonzentration ist offensichtlich nicht so entscheidend. Sie durfte allerdings nicht zu hoch gewählt werden, da die Mischung sonst zu schnell gerinnt. Um dies zu verhindern, wurde - Behringwerke - Trockenthrombin anstatt in Aqua dest. in physiolog. NaCl-Lösung aufgelöst, wodurch eine gewisse Thrombinhemmung erzielt wird.

Zu beachten ist ferner, daß die Ergebnisse nicht absolut gewertet werden dürfen, sondern nur in Relation auf den jeweiligen Leerwert. Er muß bei jeder Mischung wieder neu bestimmt werden.

Im Folgenden wird nur ein Teil der Experimente aufgeführt, da nicht immer ein durchsichtiges Ergebnis erzielt werden konnte, was wohl in der qualitativen Unterschiedlichkeit der einzelnen Substanzen, jedoch auch in der Empfindlichkeit der Methode liegen mag. Interessant ist es auch zu wissen, daß wir es hier nicht mit einem Gerinnsel zu tun haben, das mit einem Blutthrombus vergleichbar wäre. Ein Thrombin-Fibrinogengerinnsel bildet augenscheinlich in der Küvette eine elastische sulzige Masse, worin der Stempel eintaucht und mehr oder weniger der Drehungen folgt. Daß jedoch auch die Klebrigkeit eine Rolle spielt, zeigt folgender Versuch:

In eine 1 ccm-Pipette wird ein noch flüssiges Thrombin-Fibrinogengemisch bis zur Marke 0,6 aufgezogen und die Pipette 5 Min. in den Brutschrank gestellt. Anschließend wird das nun feste Gerinnsel hinausgeblasen, wobei der benötigte Druck mittels eines Manometers bestimmt wird. Gibt man nun einem Gemisch Serum zu, dann zeigt sich, daß ein bedeutend höherer Druck nötig ist, um das Gerinnsel aus der Pipette zu entfernen. Die Klebrigkeit und somit die Adhäsion an der Wand wird also durch Serum verstärkt.

Da bei den folgenden Versuchen nur me von Interesse ist, wurden alle anderen Meßgrößen unberücksichtigt gelassen.

Ansatz I.

Thrombin (Topostasin La Roche) 1 E/ccm

Fibrinogen Behring 1 %ig.

Von dieser Mischung wurde 0,45 ccm genommen und 0,05 ccm, also 1/10 Serum

beigemischt. Im Leerwert trat an dessen Stelle physiolog. NaCl-Lösung.

- (1) Leerwert
- (2) + Serum W. (normal)
- (3) + " "Resorba" (Desantigenisiertes Rinderserum)
- (4) + " Sch. (Thrombopenie, 60 000 Tz.)
- (5) + " S. (normal)
- (6) + " H. Trockenserum Hämophilie B)
- (7) + " M. " (normal)
- (8) + " D. " (Hämophilie B) + Faktor VII - Verminderung.

	1	2	3	4	5	6	7	8
me	32	89	59	56	92	75	92	47

Ansatz II

Substanzen wie oben, jedoch neue Mischung.

- (1) Leerwert
- (2) + Serum (normal)
- (3) + Faktor V 10 mg% (an Stelle von Serum)
- (4) + Faktor VII 10 mg%

	1	2	3	4
me	23	42	27	20

Ansatz III

Substanzen wie oben, neue Mischung

- (1) Leerwert
- (2) + Tachostyptan (Hormonchemie München) 1 : 3 verdünnt
- (3) + Serum M. (Trockenserum)
- (4) + Acc 76 50 mg%
- (5) + Faktor V 50 mg%
- (6) + Faktor VII 50 mg%
- (7) + Serum N. Thrombopenie, (70 000 Tz)
- (8) + Serum B. (Dicumarol)

	1	2	3	4	5	6	7	8
me	20	13	47	37	25	22	37	47

Diskussion:

Die Versuche zeigen wiederum, daß nicht jedes Serum das System in gleicher Weise aktiviert. Am besten wirkt in dieser Hinsicht Normalserum, wobei augenscheinlich auch Trockenserum, das in Aqua dest. gelöst wird, für den Test brauchbar ist. In I,3 wurde an Stelle von Serum ein Plasmaersatz verwendet. Es handelt sich um "Resorba" - eine aus Rinderblut gewonnene Flüssigkeit, die zur Eiweißsubstitutionstherapie verwendet wird. "Resorba" wirkt weniger aktivierend, ebenso Thrombopenieserum (I,4) und Serum von Hämophilie B (I,9). Im letzteren Fall handelte es sich um Trockenserum. Über den Patienten wurde schon auf S. 16 berichtet.

Es war nun wiederum von Interesse zu wissen, ob die Anwesenheit von bestimmten Plasmafaktoren für die Aktivierung verantwortlich ist. In einer neuen Versuchsreihe zeigte sich, daß Faktor V und VII praktisch keine Wirkung haben. Sie wurden in Konzentrationen von 10 mg% und 50 mg% nach Auflösung in NaCl-Lösung zugesetzt. Bei Verwendung von Tachostyptan zeigte sich eine Verschmälerung der Kurve. Acc 76 besitzt eine gewisse aktivierende Komponente in einer Konzentration von 50 mg%. Als Bestätigung der ersten Versuchsreihe zeigt sich wiederum, daß Thrombopenieserum die Kurve weniger verbreitert als Normalserum. Interessant ist, daß Dicumarolserum wie normales wirkt.

Bei Verwendung von Thrombin La Roche traten verschiedentlich große Differenzen bei den Leerwerten auf, die oft schon eine so breite Kurve ergaben, daß auf Serumbeimengung keine positive Reaktion mehr eintrat. Es wurde deshalb künftighin Test-Thrombin Behringwerke verwendet. Gleichzeitig wurde die Fibrinogenkonzentration etwas erhöht, da ansonsten durch den Fortfall der aktivierenden Stoffe des Topstasin eine zu schmale Kurve resultieren würde. Die gewählten Konzentrationen haben sich in den folgenden Versuchen als gut brauchbar erwiesen. Fehlergebnisse traten kaum noch auf. Zu beachten ist noch, daß eine Thrombinlösung für vorliegende Experimente nur dann noch am nächsten Tag zu brauchen ist, wenn sie über Nacht in den Eisschrank gestellt wird. Eine Fibrinogenlösung kann am nächsten Tag nicht mehr verwendet werden.

	1	2	3	4
me	32	54	37	22

Wie ersichtlich ist, hemmt Oxalat im Serum, wobei durch Ausschütteln diese Wirkung offenbar durch Wegfallen des adsorbierten, elastizitätsfördernden Stoffes die Oxalathemmwirkung klar zu Tage tritt.

In einer letzten Versuchsreihe wurde eine Anregung von Lüscher aufgegriffen, wonach Zucker ein Retraktions-Co-Faktor sein soll. Gleichzeitig wurde nochmals die Wirkung von ausgeschüttetem Serum erprobt.

(1) Leerwert

(2) + Serum S. (normal)

(3) + Serum S. (normal, mit BaSO_4 - 100 mg/ccm - ausgeschüttelt.

(4) + Traubenzucker 100 mg%

(5) + " 500 mg%

(6) + " 5 g%

(7) + Laevulose 1 g%

(8) + " 4 g%

	1	2	3	4	5	6	7	8
me	30	49	41	33	43	54	52	47

Diskussion:

Wiederum ist offensichtlich, daß Barium- ausgeschütteltes Serum weniger aktivierend wirkt als unbehandeltes. Der Serum-Co-Faktor muß also durch BaSO_4 teilweise adsorbiert werden. Die Wirkung von Zucker ist deutlich, doch ist sie in physiolog. Grenzen (s. Vers. 4) gering und nur in hohen Konzentrationen, wie sie allenfalls bei Diabetes mellitus vorkommen, serumgleich.

Zusammenfassung:

Den Versuchen zufolge kann über den Serum-Co-Faktor Folgendes ausgesagt werden:

Der me-Serum-Co-Faktor (= Komplexe?) ist im normalen Serum vorhanden und hat die Eigenschaft, ein schlaffes Thrombin-Fibrinogengerinnsel in gewissem Maße zu festigen bzw. seine Elastizität zu erhöhen. Er ist nach den bisher geprüften Fällen im Serum von Thrombopenikern in geringer Menge vertreten. Er wird durch BaSO_4 teilweise adsorbiert und ist nicht identisch mit den Plasmafaktoren V und VII, dagegen scheint er im Acc 76 enthalten zu sein. Er ist nicht unbedingt mit Zucker gleichzusetzen, denn nur hohe unphysiologische Konzentrationen wirken stärker aktivierend, während manche Substanzen, in denen auch Zucker enthalten ist (z.B. thrombocytenfreies Oxalatplasma) keine positive Wirkung zeigt.

Thrombocytensaft hemmt die Elastizität, allerdings nur bei Anwesenheit von Thrombocytenbruchstücken; ebenso ist Serotonin der Wirkung von Normalserum entgegengesetzt, desgleichen Oxalatplasma und Serum, wobei wohl dem Na-Oxalat eine elastizitätshemmende Komponente in vorliegendem Test zuzuschreiben ist.

L i t e r a t u r n a c h w e i s

- 1) Hartert, H.: Die Thrombelastographie in der Differentialdiagnose der hämorrh. Diathesen, Schweiz.Med.Wschr. 1949, 577.
- 2) Studien über Hämophilie. J. Amer. med. Assoc. (1948) 138, 147.
- 3) Don H. and Vendt: Gerinnungsstörung bei Hämophilie, Lancet 1940 I, 70.
- 4) Naegeli, O.: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik, Berlin: Springer 1942, und 5. Aufl.
- 5) Bernreiter, J.: Wien Med.Wschr. 100, 637-736 (1950).
- 6) Hartenbach, W.: Med. Klinik 48 (14 - 15), 1953.
- 7) Sauerbruch, F.: Med. Klinik 45 (193 - 196) 1950.
- 8) Praetorius, M.: Dt. Med. Wschr. 80 (254 - 255) 1955.
- 9) Brazel, E.: Medizinische 16 (608 - 609) 1955.
- 10) Barbioch, G.: Medizinische 43 (1458 - 1459) 1954.
- 11) Aggeler, P.M., Howard, S.P., Lucia and E. Mills: Plättchenzahl und Plättchenfunktion.
- 12) Marx R. und Schultze, H.: Verhandlungen der deutschen Gesellschaft für Innere Medizin, 59. Kongreß 1953: Über eine Möglichkeit spezifischer Blutstillung, über Förderung der Blutgerinnung durch Injektion von Acc 76, eines Konzentrates von Convertin-Accelerien (Plasmafaktor VII und VI) aus menschlichem Spenderblut.
- 13) Lüscher, E. und Labhardt, A.: Blutgerinnungsstörung durch -Globuline. Schweiz. Med. Wschr. 1949, 598.
- 14) Hartert, H.: Der Retraktions-Co-Faktor im Serum. Archiv für exper. Pathologie u. Pharm. 222, Bd. 1, 2. Heft, 1954.

S c h l u ß b e t r a c h t u n g

Vorliegende Arbeit wurde auf den Krankenstationen und im Hämatologischen Labor der I. Med. Universitätsklinik zu München in der Zeit vom April 1955 bis Oktober 1956 angefertigt.

Ich möchte es an dieser Stelle nicht versäumen, Herrn Doz. Dr. R. Marx, der mir das Thema stellte und den Thrombelastographen zur Benutzung überließ, zu danken.

In gleicher Weise danke ich den Firmen Behringwerke Marburg, Hormon-Chemie München und Dr. Benend KG, die mir Präparate und Fachliteratur zur Verfügung stellten.

Lebenslauf

Ich wurde am 8. November 1930 als Sohn des prakt. Arztes Dr. Leo Sommer in Olmütz (CSR) geboren. Ich besuchte von 1940 bis 1945 die Oberschule in Znaim, Wien und Freudenthal. Wegen der ungeordneten Verhältnisse nach dem Krieg (Ausweisung, schlechte wirtschaftliche Lage) konnte ich erst im Herbst 1947 den Schulbesuch fortsetzen. 1951 legte ich an der Oberrealschule Cham die Reifeprüfung ab. Anschließend studierte ich in Regensburg vier Semester Medizin, wo ich im Oktober 1953 die ärztliche Vorprüfung bestand. Die klinischen Semester absolvierte ich an der Universität München. Hier legte ich im Sommersemester 1957 das Staatsexamen ab. Ich bin zur Zeit Assistenzarzt am Kreiskrankenhaus Nittenau (Opf.).

